

UNTERSUCHUNGEN AN MENSCHLICHEN
NIERENBIOPSIEEN ZUR IMMUNHISTOLOGISCHEN
CHARAKTERISIERUNG BEKANNTER
GLOMERULONEPHRITISFORMEN MITTELS DER
PEROXIDASE-ANTI-PEROXIDASE (PAP-)
METHODE.

VERGLEICH DER PAP-METHODE MIT DER
IMMUNFLUORESCENZ-METHODE UND IHR WERT
FÜR DIE HISTOLOGISCHE DIAGNOSE.

Manuela Herbert

München

1986

Aus dem Pathologischen Institut der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. M. Eder

UNTERSUCHUNGEN AN MENSCHLICHEN NIERENBIOPSIEN ZUR
IMMUNHISTOLOGISCHEN CHARAKTERISIERUNG BEKANNTER
GLOMERULONEPHRITISFORMEN MITTELS DER PEROXIDASE-
ANTI-PEROXIDASE (PAP-) METHODE.
VERGLEICH DER PAP-METHODE MIT DER IMMUNFLUORESCENZ-
METHODE UND IHR WERT FÜR DIE HISTOLOGISCHE DIAGNOSE.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Manuela Herbert
aus
München

1986

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof.Dr.J.M.Gokel

Mitberichterstatter: Prof.Dr.M.Eder

Dekan: Prof.Dr.W.Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 13. Februar 1986

Meinem Vater in Dankbarkeit gewidmet

VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN

Aa.	Arterien
C3, C4	Komplementfaktor C3, C4
D	Diffus
DNS	Desoxyribonucleinsäure
F	Fokal
Fibr.	Fibrinogen
FITC	Fluorescein-Isothiocyant
FSGN	Fokal-segmental (betonte Glomerulonephritis)
G	Global
GBM	Glomeruläre Basalmembran
GN	Glomerulonephritis
HRP	Horseradish Peroxidase
iekGN	Intra- und extrakapillär-proliferative Glomerulonephritis
Ig	Immunglobulin
IMF	Immunfluoreszenz
IMP	Immunperoxidase
LM	Lichtmikroskopie
mg	Milligramm
ml	Milliliter
MPGN	Membranoproliferative Glomerulonephritis
MsPGN	Mesangioproliferative Glomerulonephritis
PAP	Peroxidase-Anti-Peroxidase
PGN	Perimembranöse Glomerulonephritis
PO	Peroxidase
RPGN	Rapid-progressive Glomerulonephritis
S	Segmental
SHS	Schönlein-Henoch-Syndrom
SLE	Systemischer Lupus Erythematodes
TBM	Tubuläre Basalmembran
(..x)	Anzahl von x Fällen
+, ++, ... ⁿ	Anzahl der grenzwertigen, geringgradigen, ...positiven Fälle

INHALTSVERZEICHNIS:

Seite

1.	EINLEITUNG.....	3
2.	METHODE UND MATERIALIEN	
2.1.	Technisches Vorgehen bei der PAP-Methode und Nachweis der verwendeten Reagenzien.....	9
2.1.1.	Das Prinzip der PAP-Methode.....	9
2.1.2.	Arbeitsablauf und Durchführung der PAP-Methode.....	11
2.1.3.	Austestung der spezifischen Antiseren.....	16
2.1.4.	Kontrollen.....	17
2.2.	Verwendetes Biopsiematerial.....	17
2.3.	Auswertungs- und Beurteilungskriterien.....	19
3.	ERGEBNISSE	
3.1.	Exsudativ-proliferative GN.....	22
3.1.1.	Charakterisierung dieser GN-Form.....	22
3.1.2.	Licht- und immunfluoreszenzmikroskopische Befunde.....	23
3.1.2.1.	Lichtmikroskopische Veränderungen.....	23
3.1.2.2.	Immunhistologische Befunde der IMF.....	24
3.1.3.	Ergebnisse der PAP-Methode.....	25
3.1.3.1.	Anzahl der Fälle.....	25
3.1.3.2.	Darstellung der PAP-Befunde bei vorliegenden IMF-Befunden.....	25
3.2.	Mesangial-/ endokapillär-proliferative GN (3.2.1.-3.2.3.3.).....	32
3.3.	IgA-Nephritis (3.3.1.-3.3.3.3.).....	46
3.4.	Intra-und extrakapillär-proliferative GN (3.4.1.-3.4.3.3.).....	55
3.5.	Proliferativ-sklerosierende GN (3.5.1.-3.5.3.3.).....	63

	Seite
3.6. Membranoproliferative GN (3.6.1.-3.6.3.3.)..	68
3.7. (Peri-) Membranöse GN (3.7.1.-3.7.3.3.).....	78
3.8. Fokal-segmental (betonte) GN (3.8.1.-3.8.3.3.)	86
3.9. Schönlein-Henoch-Syndrom (3.9.1.-3.8.3.3.)..	92
3.10. Systemischer Lupus Erythematodes (3.10.-3.10.3.3.).....	98
 4. DISKUSSION der PAP-Ergebnisse	
4.1. Exsudativ-proliferative GN.....	105
4.1.1. Vergleich der PAP-Befunde mit den IMF- Befunden.....	105
4.1.2. Vergleich der PAP-Befunde mit den histologischen Befunden.....	108
 4.2. Mesangial-/endokapillär-proli- ferative GN (4.2.1.-4.2.2.).....	111
4.3. IgA-Nephritis (4.3.1.).....	122
4.4. Intra- und extrakapillär-proli- ferative GN (4.4.1.).....	130
4.5. Proliferativ-sklerosierende GN (4.5.1.-4.5.2.)	136
4.6. Membranoproliferative GN (4.6.1.-4.6.2.)....	138
4.7. (Peri-) Membranöse GN (4.7.1.-4.7.2.).....	144
4.8. Fokal-segmental (betonte) GN (4.8.1.-4.8.2.)	149
4.9. Schönlein-Henoch-Syndrom (4.9.1.-4.9.2.)....	152
4.10. Systemischer Lupus-Erythematodes (4.10.1.)..	155
 4.11. Diskussion der PAP-Ergebnisse in einer zusammenfassenden und abschließenden Beurteilung aller in der Arbeit untersuch- ten GN-Formen.....	160
 5. ZUSAMMENFASSUNG.....	175
 6. LITERATURNACHWEIS.....	178

1. EINLEITUNG

Die Glomerulonephritis (GN) stellt eine Entzündung der Glomerula dar, wobei lichtmikroskopisch entweder alle Glomerula gleichmäßig (diffuse GN), oder einzelne Glomerula bevorzugt (fokal betonte GN) betroffen sind. Es können dabei alle Schlingen eines Glomerulum in den Entzündungsprozeß einbezogen (globaler Befall), oder aber nur ein Teil der Schlingen (segmentaler Befall) betroffen sein. Entzündliche Reaktionen, charakterisiert durch Entzündungszellen, Zellproliferation und Nekrosen, haben der Erkrankung der Glomerulonephritiden ursprünglich den Namen gegeben (ROSEN 1983; ROSEN et al. 1981; THOENES G.H. 1973; THOENES W. 1973, 1974, 1977, 1982; ZOLLINGER und MIHATSCH 1978). Die Bezeichnung bzw. Charakterisierung der Glomerulonephritiden erfolgt nach dem morphologischen Gewebsbild und den lichtmikroskopisch faßbaren glomerulären Veränderungen (THOENES W. 1973). Es gilt heute als gesichert, daß den meisten Formen der Glomerulonephritis eine immunologische Pathogenese, in Form einer Antigen-Antikörper-Reaktion, zugrunde liegt (COUSIER und SALANT 1980; HOFFSTEN et al. 1977; KLAUS 1983; STERZEL et al. 1982; UNANUE et al. 1976; VOGT und BATSFORD 1982).

Durch die Einführung und zunehmend breitere Anwendung der perkutanen Nierenbiopsie konnte eine Fülle neuer Informationen über die Pathomorphologie der Glomerulonephritis und insbesondere deren Frühstadien gewonnen werden (FISCHBACH 1973; JENIS und LOWENTHAL 1977; ROSEN 1983; ROSEN et al. 1981; THOENES W. 1973, 1974, 1977, 1979, 1982).

Als weithin übliche Untersuchung von Nierenbiopsien gilt heute eine Methodenkombination aus Lichtmikroskopie, Immunfluoreszenzmikroskopie (IMF) und Elektro-

nenmikroskopie (CHURG und GRISHMAN 1975; JENIS und LOWENTHAL 1977; THOENES W. 1979, 1982).

Die lichtmikroskopische Begutachtung erlaubt Aussagen zu den morphologischen glomerulären Veränderungen, während mit der IMF glomeruläre Ablagerungen von Immunglobulinen, Komplementfaktoren und Fibrin, die Ausdruck eines pathologischen Immungeschehens sein können, darstellbar sind (ZOLLINGER und MIHATSCH 1978). Die elektronenmikroskopische Untersuchung ermöglicht die ultrastrukturelle Darstellung von Veränderungen an den verschiedenen Zelltypen des Glomerulum und der glomerulären Basalmembran, sowie die exakte Lokalisation von Immunkomplexen. Durch die kombinierte Anwendung dieser drei Methoden, sog. "Triple-Methodik", ist eine exakte Charakterisierung der unterschiedlichen GN-Formen möglich.

Die immunhistologische Darstellung von glomerulären Erkrankungen war bis vor einiger Zeit ausschließlich mit der von COONS et al. (1941) entwickelten Immunfluoreszenz-Methode möglich.

Die bei dieser Methode auftretenden Schwierigkeiten in der technischen Durchführung und Interpretation der immunhistologischen Bilder setzen dieser Untersuchungstechnik, vor allem in der routinemäßigen Aufarbeitung von Biopsien, Grenzen (BURNS 1978; TUBBS et al. 1981): So ist die Immunfluoreszenztechnik nur (1) für frisch gewonnenes und tiefgefrorenes Gewebe geeignet, was die Anwendbarkeit als Routinemethode aus organisatorischen Gründen und Transportproblemen einschränkt (TAYLOR 1978). Andere Nachteile sind, daß (2) strukturelle Einzelheiten des Gewebes an Gefrierschnitten nicht oder nur unbedeutend sichtbar sind, zumal (3) die Schnittdicke von Gefrierpräparaten relativ groß ist und (4) zur Begutachtung der Fluorescein-Isothiocyanat (FITC)-markierten Antikörper spezielle Fluoreszenzmikroskope benötigt werden. Aufgrund dieses unterschiedlich bearbeiteten Schnittmaterials und der abweichenden optischen Ver-

hältnisse ist das IMF-Bild nicht mehr mit den lichtmikroskopischen Befunden vergleichbar und kann nicht mit den sonst üblichen morphologischen Maßstäben beurteilt werden (DENK et al. 1977; McIVER und MEPHAM 1982; TAYLOR 1978). Ein weiterer Nachteil der FITC-markierten Antikörper ist, daß (5) die Autofluoreszenz mit zunehmender Exposition der Schnitte abnimmt und eine Dokumentation des Befundes photographisch erfolgen muß (BOSMAN et al. 1979; BURNS et al. 1974; NAKANE und PIERCE 1966, 1967; TAYLOR und BURNS 1974). Lichtmikroskopische Fragestellungen, die sich evtl. erst aufgrund der nachfolgenden histologischen Untersuchung ergeben, sind nicht mehr am Originalpräparat zu beantworten. Auch ist die Methode (6) nicht für retrospektive Studien geeignet (DENK et al. 1977). Die Verwendung der FITC-markierten Antikörper für die Elektronenmikroskopie ist (7) nur eingeschränkt möglich und muß als weiterer Nachteil dieser Methode gelten (BURNS 1978; NAKANE und PIERCE 1967).

Aus den genannten Gründen strebte man die Entwicklung einer immunhistologischen Methode an, die einerseits Antigene in Gewebeproben zuverlässig nachweisen konnte und andererseits für die routinemäßige histologische Verarbeitung geeignet war.

AVRAMEAS und URIEL (1966), NAKANE und PIERCE (1966) entwickelten unabhängig voneinander eine Methode, bei der Antikörper mit Enzymen, speziell mit einer Meerrettich-Peroxidase (HRP: Horseradish Peroxidase) markiert wurden. In einer durch die Peroxidase katalysierten Reaktion, wurde das Substrat 3,3'-Diaminobenzidin-Tetrahydrochlorid (DAB) und Hydrogen-Peroxid (H_2O_2) zu einer in Wasser unlöslichen Verbindung oxidiert (GRAHAM und KARNOVSKY 1966). Dieses Reaktionsprodukt ist stabil, wasserunlöslich und nur an den Stellen des Gewebes vorhanden, an denen sich der Peroxidase-markierte Antikörper befand (BURNS 1978).

Die verschiedenen, in der folgenden Zeit entwickelten Peroxidase (PO) - Techniken bieten den großen Vorteil, daß sie an routinemäßig, in Paraffin eingebettetem Gewebe anwendbar und mit einer üblichen lichtmikroskopischen Betrachtung beurteilbar sind (BERGROTH et al. 1980; CLYNE et al. 1973; MURPHY et al. 1973; NAKANE und PIERCE 1967; TAYLOR 1978; TAYLOR und BURNS 1974; TUBBS et al. 1981).

Das Paraffinmaterial ist mit 1-3 µm dünner als die Gefrierschnitte der IMF, und die morphologische Interpretation dadurch wesentlich erleichtert (McIVER und MEPHAM 1982).

Die Schnitte können mit gebräuchlichen Färbungen bearbeitet werden, was den Vorteil einer genauen Zuordnung der Immunsustanzen zu den verschiedenen Gewebsstrukturen bietet (TUBBS et al. 1980).

Elektronenmikroskopische Untersuchungen sind mit diesen Techniken ebenfalls möglich geworden, was einen weiteren Vorteil gegenüber den IMF-Methoden darstellt (BURNS 1978). Die histologischen Präparate sind dauerhaft und können bei entsprechender Fragestellung nachbefundet werden; auch retrospektive, immunhistologische Untersuchungen an routinemäßig bearbeitetem Material sind möglich (McIVER und MEPHAM 1980). Die Vorteile der Immunperoxidase-Methode im Vergleich zu der IMF-Technik können nicht darüber hinwegtäuschen, daß die Immunfluoreszenz eine Methode ist, mit der langjährige ausgereifte und verlässliche Erfahrungen vorliegen und deren Ergebnisse durch zahlreiche Studien gesichert sind (NAKANE und PIERCE 1967; TAYLOR 1978).

Die immunhistologische Untersuchung von Glomerulonephritiden mittels der IMF-Technik hat desweiteren einen festen Platz in der Charakterisierung und Diagnosestellung erlangt und einige GN-Formen, z.B. die IgA-Nephritis, konnten durch diese Technik erstmals klassifiziert werden (THOENES 1982).

Die Bemühungen zielten deshalb in den letzten Jahren daraufhin ab, die sich in den einzelnen Reaktionsschritten unterscheidenden Peroxidase-Techniken zu verbessern und auf ihre Anwendung für die Routinepathologie bei paraffineingebettetem Material hin zu überprüfen mit dem Ziel, eine der IMF gleichwertige Methode zur Verfügung zu haben (BERGROTH et al. 1980; BURNS 1975; ERLANDSEN et al. 1975; HEYDERMAN 1979; TAYLOR 1978; TUBBS et al. 1981).

Die Absicht dieser Arbeit war zu zeigen, inwieweit diese Techniken bei routinemäßig bearbeitetem Nierenbiopsiematerial eingesetzt werden können und welche Ergebnisse im Vergleich zu den korrespondierenden IMF-Befunden zu erzielen sind.

Unter den verschiedenen Immunperoxidase-Techniken wurde für diese Arbeit die von STERNBERGER et al. (1970) eingeführte Peroxidase-Anti-Peroxidase (PAP)-Methode ausgewählt, weil sie sich durch eine hohe Spezifität und Sensitivität auszeichnen soll.

Das Nierenbiopsiematerial der Jahre 1974 bis 1983 des Pathologischen Instituts der Universität München wurde mit der PAP-Methode unter den folgenden Fragestellungen bearbeitet:

a) Welche immunhistologischen Ergebnisse sind mit der PAP-Methode an routinemäßig fixiertem und in Paraffin eingebettetem Nierenbiopsiematerial zu erzielen.

Zur Beantwortung dieser Fragestellung wurden die bei diesem Biopsiematerial vorliegenden IMF-Befunde zum Vergleich herangezogen und mit den PAP-Befunden unter verschiedenen Gesichtspunkten korreliert.

b) Ein Teil der vorhandenen Nierenbiopsien war immunhistologisch nicht untersucht und sollte mit der PAP-Methode aus immunmorphologischer Sicht dargestellt werden. Es war dabei von Interesse, inwieweit retrospektiv Aussagen zu immunologischen Veränderungen bei den verschiedenen GN-Formen möglich sind und welchen

Beitrag diese Methode in Hinblick auf die histologisch gestellten Diagnosen erbringen kann.

c) Die in dieser Untersuchung erstellten PAP-Befunde sollten desweiteren aufzeigen, welche Abweichungen und Übereinstimmungen sich zu den Ergebnissen bereits vorliegender Untersuchungen ergeben (DENK et al. 1977; McIVER und MEPHAM 1982; McIVER et al. 1979; SINCLAIR et al. 1981). Die Studien dieser Autoren hatten, übereinstimmend mit dieser Arbeit, einen Vergleich der IMF-Methode mit der PAP-Technik zum Ziel. Die Ergebnisse wurden jedoch in allen Arbeiten für die verschiedenen GN-Formen zusammengefaßt dargestellt und umfassende Erfahrungen zu den einzelnen Formen von Glomerulonephritis - vergleichbar mit denjenigen der IMF (BOHLE et al. 1984; DISCHE und PARSONS 1977; FISCHBACH 1973; GÄRTNER et al. 1978; MOREL-MAROGER et al. 1972, 1973; THOENES G.H. 1973, 1973; ZOLLINGER und MIHATSCH 1978) - liegen somit nicht vor.

Abweichend von den genannten Autoren wurde deshalb in dieser Untersuchung großer Wert darauf gelegt, die immunhistologische Darstellbarkeit mit der PAP-Methode an den unterschiedlichen Glomerulonephritis-Formen getrennt aufzuzeigen.

d) Die Darstellung von Vor- und Nachteilen, Schwierigkeiten in der technischen Durchführung und Begutachtung, sowie Grenzen und Artefakten, die bei der PAP-Methode auftreten können, war ein weiteres wesentliches Ziel dieser Untersuchung.

2. METHODE UND MATERIALIEN

2.1. Technisches Vorgehen bei der PAP-Methode und Nachweis der verwendeten Reagenzien

2.1.1. Das Prinzip der PAP-Methode

Die Immunperoxidase-Methoden, die von AVRAMEAS und URIEL (1966) und NAKANE und PIERCE (1966) entwickelt wurden, waren sog. "konjugierte Peroxidasetechniken", bei denen die Meerrettich-Peroxidase direkt mit dem Antikörper verbunden war. Die Konjugation von Antikörper und Meerrettich-Peroxidase (HRP: Horseradish Peroxidase) erfolgte mit bifunktionellen Reagenzien, wie z.B. Glutaraldehyd (AVRAMEAS 1969). Bei dieser Reaktion entstanden einerseits in einem hohen Prozentsatz nicht mit HRP markierte Immunglobulinpolymere, sowie freies HRP, was beides zu einer unspezifischen Hintergrundanfärbung führte. Andererseits lagen freie Antikörper vor, die mit den konjugierten um die antigenen Bindungsstellen konkurrierten, so daß es zu einer Verminderung der Sensitivität kam (BURNS 1978). Auch wurden sowohl die Antikörper-, wie auch die Enzymaktivitäten durch diese Reaktionen vermindert (BURNS 1978).

Die Peroxidase-Anti-Peroxidase (PAP)-Methode beruht hingegen auf der Verwendung von unkonjugierten Antikörpern und wurde von STERNBERGER et al. (1970) als immunhistologische Untersuchungstechnik eingeführt. Durch den Einsatz von unkonjugierten Antikörpern ließen sich die Schwierigkeiten bei der Konjugation von Antikörper und Peroxidase umgehen, und es war die Voraussetzung für eine sehr hohe Sensitivität und Spezifität bei der Darstellung von Gewebeanantigenen gegeben (BOENISCH 1980; BURNS 1975, 1978; CURRAN und JONES 1977; TAYLOR 1978; TUBBS et al. 1981).

Die PAP-Methode erfordert vier Reaktionsschritte, um

die im Gewebe vorliegenden Antigene färbend darzustellen und sichtbar machen zu können (BOENISCH 1980; BURNS 1975, 1978; STERNBERGER et al. 1970):

(1) In einem ersten Schritt werden spezifische Antikörper, die gegen das darzustellende Antigen gerichtet sind, auf die Gewebeschnitte aufgetragen. Diese spezifischen Antiseren werden als sog. "Primäre Antikörper" bezeichnet, und müssen von der gleichen Tierart gewonnen sein, wie der Antikörper gegen das Enzym Peroxidase.

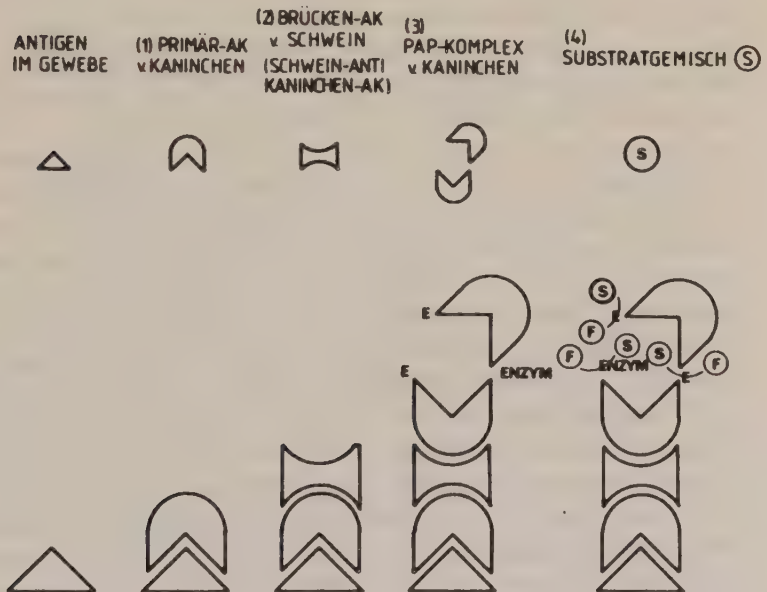
Die in der Arbeit verwendeten "Primärantikörper" wurden im Kaninchen hergestellt.

(2) In dem darauffolgenden Schritt wird das Präparat mit einem zweiten Antikörper überschichtet, der aus einem Schweineantiserum gegen die Kaninchenimmunglobuline besteht. Dieser sog. "Brückenantikörper" bindet sich seinerseits an jeglichen auf dem Schnitt vorhandenen Primär-Kaninchen-Antikörper. Da alle Antikörper zwei Antigen determinanten besitzen, wird ein Überschuß an Brückenantikörper hinzugefügt, so daß eine Antigen determinante frei bleibt.

(3) In einem dritten Schritt wird das Peroxidase-Anti-Peroxidase (PAP)-Reagenz hinzugefügt. PAP ist ein löslicher Immunkomplex, der aus dem Enzym Peroxidase und seinem Antikörper Anti-Peroxidase besteht. Da es sich bei der Anti-Peroxidase um ein Kaninchenimmunglobulin handelt, bindet sich dieser Antikörper an die freie Antigen determinante des auf dem Schnitt befindlichen Brückenantikörpers.

(4) In einem letzten Schritt wird ein Substrat hinzugefügt, das aus Wasserstoffperoxid und einem Inkubationsgemisch aus p-Phenylendiamin (PPD) und Pyrocatechol (PC), entsprechend der Methode nach HANKER et al. (1977), besteht. Das Enzym Peroxidase katalysiert eine Reaktion, bei der dieses Substratgemisch zu einer in Wasser unlöslichen schwarz-braunen Verbindung oxidiert wird.

Da die Peroxidase nur in den Stellen des Gewebes vorhanden ist, an die sich der PAP-Komplex über den Brückenantikörper und den gegen das Antigen gerichteten Primärantikörper gebunden hat, wird das gesuchte Antigen durch die schwarz-braune Ablagerung sichtbar. Die folgende schematische Darstellung, nach BOENISCH (1980), soll den beschriebenen Reaktionsablauf der PAP-Methode verdeutlichen.



2.1.2. Arbeitsablauf und Durchführung der PAP-Methode

Die Bearbeitung des Nierenbiopsiematerials lehnte sich an diejenige, von anderen Autoren dargestellte Durchführung der PAP-Methode an (HELMCHEN; HEYDERMANN 1979; READING 1977; STERNBERGER et al. 1970) und wurde mit einigen Abwandlungen angewandt.

Das Biopsiematerial wurde routinemäßig in 4 % gepuffer-

tem neutralen Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet. Die 3-5 μ m dicken Paraffinschnitte wurden auf mit Aceton gereinigten Objektträgern aufgezogen und es wurde darauf geachtet, daß der Abstand der einzelnen Schnitte nicht mehr als 1 cm betrug.

Danach wurden die Schnitte bei 50°C im Brutschrank für 12 Stunden getrocknet (nach HEYDERMANN 1979; READING 1977), wobei längere Trocknungszeiten vermieden werden mußten, um nicht eine Verminderung der Färbeintensität zu erhalten (READING 1977).

Die getrockneten Schnitte wurden für 10 Minuten in Xylol eingetaucht, sowie in einer anschließenden, absteigenden Alkoholreihe von 100%, 96% und 70% Alkohol jeweils für 2 Minuten in zwei verschiedenen Küvetten entparaffinisiert. Nach der Entparaffinisierung wurden die Schnitte für 5 Minuten in eine Küvette mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS-Puffer) gebracht, um die Alkoholreste von den Schnitten zu entfernen und ein neutrales Milieu für die nachfolgenden Antikörper zu erhalten. Dieser PBS-Puffer, der im folgenden für die Verdünnung der Antiseren, wie auch für alle Abwaschvorgänge verwendet wurde, war 0,1 M und auf einen pH-Wert von 7,5 eingestellt.

Er wurde aus einer Lösung I mit 6,9g Na-hydrogenphosphat-1-hydrat $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ + 4,2g NaCl auf 500ml Aqua dest. und einer Lösung II mit 17,8g Na-hydrogenphosphat-2-hydrat $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ + 8,4g NaCl auf 1000ml Aqua dest. hergestellt. Die Lösung II wurde im folgenden mit der Lösung I auf einen pH-Wert von 7,5 titriert.

Die Schnitte wurden in einem nächsten Schritt mit dem proteolytischen Enzym Protease bearbeitet, um einerseits die Sensitivität der PAP-Methode durch eine "Demaskierung" der Antigene zu erhöhen und andererseits eine störende Hintergrundsanfärbung zu vermeiden (CURRAN und GREGORY 1977; DENK et al. 1977; MEPHAM

et al. 1979; READING 1977). Die Protease wurde in einer 0,1% Konzentration in PBS-Puffer für 15 Minuten verwendet, und vor jedem Arbeitsgang frisch angesetzt sowie im Brutschrank bei 37°C für 10 Minuten vorgewärmt.

Um die Proteaseaktivität zu unterbrechen, wurden die Schnitte anschließend für 30 Minuten in einen eiskalten PBS-Puffer gebracht und bei 4°C im Kühlschrank aufbewahrt.

Anschließend wurden die Schnitte in ein 1% H_2O_2 -Methanol-Gemisch, bestehend aus 150 ml Methanol + 5 ml H_2O_2 für 30 Minuten überführt, um jegliche endogene Peroxidaseaktivität, z.B. in Erythrozyten und Leukozyten, zu zerstören (BERGROTH et al. 1980; BURNS 1975, 1978; CURRAN und JONES 1977; De LELLIS et al. 1979; STERNBERGER et al. 1970).

Alle folgenden Schritte wurden in einer feuchten Kammer bei 37°C im Brutschrank ausgeführt, um eine Austrocknung der Schnitte zu vermeiden.

Es folgte die Inkubation der Schnitte mit normalem Schweineserum, das eine unspezifische Bindung von Immunglobulinen verhindert (BERGROTH et al. 1980; BURNS 1975, 1978; CURRAN und JONES 1977). Dieses normale Schweineserum wurde 1:10 mit PBS-Puffer verdünnt, für 10 Minuten auf den Schnitten belassen und danach nicht abgespült, sondern wie von BOSMAN et al. (1977) und BURNS (1975) angegeben, auf saugfähige Labortücher abgetropft.

Nun wurden die Schnitte jeweils mit den spezifischen Primärantikörpern gegen IgG, IgA, IgM und Fibrinogen für 30 Minuten überschichtet.

Neben diesen Immunglobulinen bzw. Fibrinogen wurden auch die Komplementfaktoren C3 und C4 dargestellt. Es folgte ein Abwaschvorgang, um überschüssige Anteile des ungebundenen Primärantikörpers zu entfernen, der nicht mit einer Pipette ausgeführt wurde, sondern

in zwei verschiedenen Pufferbädern. Durch die häufigen Abspülvorgänge besteht die Gefahr, daß sich die Schnitte ablösen, so daß ein vorsichtiges Abwaschen notwendig ist, um nicht das z.T. spärliche Schnittmaterial zu verlieren. Die Präparate wurden im folgenden Schritt mit einem Schweineantiserum gegen Kaninchenimmunglobuline, dem sog. "Brückenantikörper", in einer Verdünnung mit PBS-Puffer von 1:80 für 30 Minuten überschichtet.

Nach einem erneuten Abwaschvorgang wurde der Peroxidase-Anti-Peroxidase-Komplex in einer Verdünnung von 1:120 für 30 Minuten hinzugefügt. Ungebundenes PAP-Reagenz wurde daraufhin durch Spülen in einem Färbekbänkchen entfernt.

Als letzter Schritt wurde das Substratgemisch aus 150 mg p-Phenylendiamin-dihydrochlorid + 300 mg Pyrocatechol in 200 ml PBS-Puffer gelöst, mit einem Magnetührer vermischt, gefiltert und zum Schluß mit 0,1 ml H_2O_2 versetzt (nach HANKER et al. 1977). Die Schnitte wurden in diesem Substratgemisch für 10 Minuten belassen und danach ausgiebig fließend gewässert. Es folgte eine Gegenfärbung mit Mayers-Hämalaun für 5 Minuten, um die Gewebestrukturen sichtbar zu machen und somit die spezifischen Ablagerungen lokalisieren zu können (TUBBS et al. 1980).

Nach ausgiebiger Wässerung wurden die Schnitte über eine aufsteigende Reihe mit 70 %, 96 % und 100 % Alkohol sowie Xylol geführt und mit dem Eindeckmittel "Vitro-clud" eingedeckt.

Die angegebenen Reagenzien und Antikörper wurden, in der Reihenfolge ihrer Aufführung, über folgende Quellen bezogen:

1. Natriumchlorid ($NaCl$): Fa.E. Merck, Darmstadt;
2. Na-hydrogenphosphat-1-hydrat ($NaH_2PO_4 \cdot H_2O$): Fa. E. Merck, Darmstadt;
3. Na-hydrogenphosphat-2-hydrat ($Na_2 HPO_4 \cdot 2H_2O$): Fa. E. Merck, Darmstadt;

4. Protease: Sigma Chemical Company, P 5255, St.Louis, MO, USA;
5. H_2O_2 : Perhydrol^R 30%, Fa.E. Merck, Darmstadt;
6. Methanol: J.T. Baker Chemicals B.V.-Deventer-Holland;
7. Normales Schweineserum: Normal Swine Serum, X901, Dakopatts A/S, Kopenhagen, Dänemark; bezogen über Boehringer Ingelheim Diagnostika GmbH, Garching/München;
8. Antiserum gegen Human-IgG/ γ - Kette: Antiserum vom Kaninchen für die Immunpräzipitation, Behringwerke AG, Marburg, W. Germany;
9. Antiserum gegen Human-IgA/ α -Kette: Behringwerke AG, Marburg, W. Germany;
10. Antiserum gegen Human-IgM/ μ -Kette: Behringwerke AG, Marburg, W. Germany;
11. Clotimmun^R-Fibrinogen: Behringwerke AG, Marburg, W. Germany;
12. Antiserum gegen Human-C3c: Behringwerke AG, Marburg, W. Germany;
13. Antiserum gegen Human-C4: Behringwerke AG, Marburg, W. Germany;
14. Rabbit immunoglobulins to human C3c (A062): Dakopatts A/S, Kopenhagen; bezogen über Boehringer Ingelheim Diagnostika GmbH, Garching/München;
15. Rabbit immunoglobulins to human C4 (A065): Dakopatts A/S, Kopenhagen; bezogen über Boehringer Ingelheim Diagnostika GmbH, Garching/ München;
16. Swine anti-rabbit immunoglobulin (Z196): Dakopatts A/S, Kopenhagen; bezogen über Boehringer Ingelheim Diagnostika GmbH, Garching/München;
17. Peroxidase-Anti-Peroxidase-Komplex, PAP, rabbit (Z113): Dakopatts A/S, Kopenhagen; bezogen über Boehringer Ingelheim Diagnostika GmbH, Garching/München;
18. p-Phenylenediamin-dihydrochlorid: Polysciences Inc. Warrington; bezogen über Fa. Päsel, Frankfurt;
19. Pyrocatechol: Polysciences Inc. Warrington; bezogen über Fa. Päsel, Frankfurt;
20. Vitro-clud: Fa. Langenbrink, Emmendingen.

2.1.3. Austestung der spezifischen Antiseren

Die spezifischen Antiseren wurden an Autopsiefällen von perimembranöser GN und Lupus-GN ausgetestet, deren histologische und immunmorphologische Diagnose bekannt war.

Dies hatte zwar den Vorteil, daß genügend Untersuchungsmaterial für Verdünnungsreihen zur Verfügung stand, aber den Nachteil, daß sich in dem Autopsiematerial starke Hintergrundanfärbungen zeigten, die bei gleicher Verdünnung des primären Antikörpers in dem Biopsiematerial nicht anzutreffen waren. Auch konnten bei dem Biopsiematerial, im Vergleich zu den Autopsiefällen, höhere Konzentrationen des primären Antikörpers ohne störenden Hintergrund eingesetzt werden, so daß die Austestung an autopsischem Material nur bedingt auf Biopsiematerial übertragbar war. Ein weiterer Nachteil des Autopsiematerials bestand darin, daß die meist fortgeschrittenen Stadien der glomerulären Erkrankung immunhistologisch nicht mehr charakteristische Befunde aufweisen (ALBINI et al. 1979; KINCAID-SMITH 1975; VELOSA et al. 1976).

Um eine Standardisierung bei der Bearbeitung des Biopsiematerials zu erzielen, sowie durch eine möglichst hohe Verdünnung die Hintergrundanfärbungen zu vermeiden (BURNS 1975, 1978; CURRAN und JONES 1977; ERLANDSEN et al. 1975; MARUCCI und DOUGHERTY 1975; TAYLOR 1978), wurden die primären Antiseren mit PBS-Puffer wie folgt verdünnt: IgG 1:100, IgA 1:100, IgM 1:100, Fibrinogen 1:200. Die Komplementfaktoren C3c und C4 von Dakopatts A/S erforderten höhere Konzentrationen von 1:50 bis 1:20. Die Antiseren gegen Human-C3c und - C4 der Behringwerke AG wurden versuchsweise bei den IgA-Nephritiden eingesetzt und konnten im Vergleich zu den entsprechenden IMF-Befunden keine zufriedenstellenden Ergebnisse aufweisen.

Aufgrund dieser Erfahrung unterblieb der Einsatz dieser Reagenzien bei allen anderen Formen von GN zugun-

sten der C3c- und C4-Präparaten von Dakopatts A/S. Proteasekonzentrationen und -zeiten, Färbezeiten, wie auch die Konzentrationen des "Brückenantikörpers" und des PAP-Komplexes wurden bei allen Biopsien gleich gewählt, um eine Standardisierung und bessere Vergleichbarkeit zu erzielen.

2.1.4. Kontrollen

Die Kontrollen bestanden einmal (1) in dem Mitführen von bekanntem normalem Nierengewebe, das von einer gesunden Spenderniere stammte.

Desweiteren (2) wurden die spezifischen Primärantikörper bei sonst unverändertem Arbeitsablauf ausgelassen. Eine weitere Kontrolle (3) bestand im Weglassen des Primär- und Brückenantikörpers, so daß diese Kontrollschnitte nur mit dem PAP-Komplex inkubiert wurden. Die letzte Art der Kontrolle (4) war die alleinige Durchführung der Färbereaktion, wobei die Kontrollpräparate mit keinem der drei Antikörper bearbeitet wurden.

Diese Möglichkeiten der Kontrolle sind, wie auch in dieser Arbeit, bei früheren Untersuchungen mit der PAP-Methode angewendet worden (BURNS 1978; CURRAN und JONES 1977; HEYDERMAN 1979; De LELLIS et al. 1979; TAYLOR 1978).

2.2. Verwendetes Biopsiematerial

Das bearbeitete Untersuchungsmaterial bestand aus routinemäßig in Paraffin eingebetteten Nierenstanzzyllindern aus dem Eingangsmaterial des Pathologischen Instituts der Universität München.

Es wurden insgesamt 268 Biopsien aus den Jahren 1974 bis 1983 bearbeitet und die verschiedenen GN-Formen entsprechend der Einteilung der Glomerulonephritiden nach THOENES W. (1973) aufgeschlüsselt.

Abweichend von dieser Einteilung wurde die IgA-Nephritis nicht zusammen mit der mesangial-/endokapillärproliferativen GN dargestellt, sondern aus immunhisto-

logischer Sicht gesondert betrachtet.

Biopsien mit den lichtmikroskopischen Befunden einer Minimalglomerulonephritis wurden nicht berücksichtigt, da die Anwendbarkeit der PAP-Methode bei den Formen von GN überprüft werden sollte, bei denen ein immunhistologisch positiver Befund zu erwarten ist. Lag neben der histologischen Diagnose einer Minimal-GN ein positiver IMF-Befund vor, der die Annahme z.B. einer minimalen IgA-Nephritis oder minimalen Lupus-GN rechtfertigte, so wurden diese Fälle bei den entsprechenden GN-Formen berücksichtigt.

Die Glomerulonephritiden bei Systemerkrankungen wie z.B. bei Schönlein-Henoch-Syndrom und Systemischem Lupus Erythematodes sind in der Arbeit mitberücksichtigt und getrennt dargestellt worden. Das Goodpasture-Syndrom wurde im Rahmen der intra- und extrakapillär-proliferativen GN abgehandelt (BOHLE et al. 1984). Es ergab sich damit folgende Einteilung der zehn untersuchten Formen von Glomerulonephritis, die aus den oben angeführten Gründen in drei Punkten (IgA-Nephritis, GN mit Minimalläsionen und GN bei Systemerkrankungen) von der Einteilung nach THOENES W. (1973) abweicht:

DIFFUSE Glomerulonephritiden

1. Exsudativ-proliferative GN: 28 Fälle
2. Mesangial-/endokapillär-proliferative GN: 77 Fälle
3. IgA-Nephritis: 40 Fälle
4. Intra- und extrakapillär-proliferative GN: 16 Fälle
5. Proliferativ-sklerosierende GN: 5 Fälle
6. Membranoproliferative GN: 13 Fälle
7. (Peri-)Membranöse GN: 34 Fälle

FOKAL (betonte) Glomerulonephritiden

8. Fokal-segmental (betonte) GN: 21 Fälle

Glomerulonephritiden bei SYSTEMERKRANKUNGEN

9. Schönlein-Henoch-Syndrom: 15 Fälle
10. Systemischer Lupus Erythematodes: 19 Fälle

2.3. Auswertungs- und Beurteilungskriterien

Die PAP-Befunde wurden an einem Leitz Mikroskop erhoben und unter 2,5-, 10- und 40-facher sowie 100-facher (Öl-immersions-) Vergrößerung begutachtet.

Für jeden untersuchten Fall wurde ein Bewertungsprotokoll, modifiziert nach TUBBS und GEPHARDT (1983) angelegt, das die einzelnen Immunglobulin- und Komplementablagerungen getrennt nach ihrer Lokalisation in glomerulären Basalmembranstrukturen, Mesangien, dem Bowman's Kapselepithel, Halbmondbildungen und in segmental, wie auch völlig verödeten Glomerula berücksichtigt.

Die Lokalisation der Depots an den einzelnen glomerulären Basalmembranstrukturen wurde, so weit möglich, bei den verschiedenen GN-Formen genauer bestimmt und in den Ergebnissen dargestellt, so daß die Bezeichnung "membranös" einen Sammelbegriff darstellt.

Extraglomerulär wurden Ablagerungen in tubulären Basalmembranen, Zellen und Zylindern berücksichtigt. Ablagerungen in Gefäßstrukturen, wie auch interstitielle Depots wurden ebenfalls in die Auswertung einbezogen. Das Verteilungsmuster der Immunglobuline und Komplementfaktoren wurde nach dem Ausmaß der befallenen Glomerula in diffus (D) und fokal (F) und nach dem Anteil der betroffenen glomerulären Kapillarschlingen in global (G) und segmental (S) unterschieden.

Soweit möglich, wurde das Aussehen der Ablagerungen, als fein- und grob-granuläre, sowie konfluierende Depots angegeben. Letztlich wurde bei jedem Fall die Anzahl der vorhandenen Glomerula und das Verhältnis von positiv zu negativ dargestellten Nierenkörperchen berücksichtigt. Die Intensität und das Ausmaß der abgelagerten Immunsustanzen wurden semiquantitativ, wie folgt, bewertet:

- : Keine Ablagerungen
- + : Fragliche, nicht sicher zu bestimmende Ablagerungen
- ++ : Geringgradige Ablagerungen
- +++ : Mäßiggradig ausgeprägte Ablagerungen
- ++++ : Stark ausgeprägte Ablagerungen

Die mit der PAP-Methode erhobenen Befunde wurden einem Vergleich mit den Befunden der immunfluoreszenzmikroskopischen Untersuchung unterzogen. Diese waren routinemäßig im Immunbiologischen Labor der Medizinischen Klinik der Innenstadt, Ziemsenstraße, München angefertigt und von Herrn Prof. THOENES begutachtet und ausgewertet worden.

Die besondere Danksagung gilt Herrn Prof. Thoenes, der die Verwendung dieser Befunde im Rahmen der vorliegenden Arbeit gestattete. Soweit aus den Beschreibungen dieser IMF-Befunde ersichtlich, wurden die IMF-Befunde nach den gleichen Beurteilungskriterien ausgewertet, die auch bei den PAP-Befunden angewandt und dargestellt worden sind.

Ein Vergleich der beiden Methoden war in 197 von 268 Fällen möglich, da bei diesen Biopsien eine immunfluoreszenzmikroskopische Untersuchung durchgeführt worden war. Die restlichen 71 von 268 Fällen, vornehmlich Biopsien, die von auswärtigen Krankenhäusern übersandt waren, liessen eine immunhistologische Untersuchung vermissen. Die Diagnose und Klassifizierung der GN-Formen, die als Grundlage für die Zusammenstellung der bearbeiteten Fälle von Glomerulonephritis diente, erfolgte an Serienschnitten der Biopsien, die mit einer Hämatoxylin-Eosin (HE)-Färbung, Perjodsäure-Schiffs-Reaktion (PAS), Versilberung nach Movat und Pearse-Färbung dargestellt wurden.

Bei dem Vergleich der PAP- mit den IMF-Befunden wurde die histologische Diagnose mitberücksichtigt und in Fällen, die einen IMF-Befund vermissen ließen, die Ergebnisse der PAP-Methode mit den histologischen Befunden korreliert.

Das im folgenden abgebildete, bei der Auswertung verwendete Beurteilungsprotokoll, soll die beschriebenen Bewertungs- und Beurteilungskriterien bei der Befunderhebung verdeutlichen.

LM IF PAP

IMMUNGLOBULIN-ART						DEPOT-LOKALISATION
IGA	IGM	FIBR	C3	C4		
						MEMBRANÖS
						MESANGIAL
						BOWMAN'S KAPSEL
						HALBMONDE
						VÖLLIGE VERÖDUNG
						SEGMENTALE VERÖDUNG
						TBM DEPOTS
						TUBULUS - ZELLEN DEPOTS
						TUBULÄRE ZYLINDER
						ARTERIOLEN-AA-DEPOTS
						INTERST. DEPOT
						GLOMERULA INSGES./POS.

VERTEILUNGS- MUSTER		GLOMERULA - ANZAHL	
FOKAL / DIFFUS		INSGESAMT	
SEGMENTAL / GLOBAL		POSITIV	
GRANULÄ		NEGATIV	

FOKAL/DIFFUS		INGSAMT	
SEGMENTAL/GLOBAL		POSITIV	
GRANULA		NEGATIV	

FOKAL / DIFFUS	
SEGMENTAL / GLOBAL	
GLOMERULA-ANZAHL	

3. ERGEBNISSE

3.1. Exsudativ-proliferative GN

3.1.1. Charakterisierung dieser GN-Form

Die exsudativ-proliferative GN ist das morphologische Substrat der akuten postinfektiösen Glomerulonephritis, die als akute GN nach Infektionen mit β -hämolyisierenden Streptokokken der Gruppe A auftritt und danach als Poststreptokokken-GN bezeichnet wird (KLAUS 1983; THOENES W. 1983). Für die Nicht-Streptokokkenbedingte exsudativ-proliferative GN kommen neben verschiedenen bakteriellen Antigenen auch Antigene von Viren und Parasiten in Betracht, weshalb man auch von postinfektiöser GN spricht (BOHLE et al. 1976; BURKHOLDER 1973; FISCHBACH 1973; KINCAID-SMITH 1975; KLAUS 1983; THOENES W. 1982). Die Bezeichnung "exsudativ" bezieht sich auf das Auftreten von neutrophilen Granulozyten und Monozyten in den Kapillarlumina und seltener auch in mesangialen Bereichen sowie dem Bowman's Kapselraum (CHURG und DUFFY 1973; HABIB 1973; KINCAID-SMITH 1975; THOENES W. 1973, 1979, 1982). Der starke Zellreichtum des Schlingenkonvolutes ist daneben durch eine diffuse Proliferation von Mesangiumzellen und Endothelzellen bedingt (CHURG und DUFFY 1973; HABIB 1973; MEADOW 1978; THOENES W. 1973). Mit dem Rückgang der hämatogenen, mobilen Zellelemente im Schlingenkonvolut im späteren Krankheitsverlauf resultieren histologisch vorwiegend mesangiale Veränderungen, im Sinne einer mesangial-proliferativen GN (MEADOW 1978; THOENES W. 1982).

3.1.2. Licht- und immunfluoreszenzmikroskopische Befunde

3.1.2.1. Lichtmikroskopische Veränderungen

In dem untersuchten Biopsiegut lagen in 28 Fällen Glomerulonephritiden vor, die histologisch entweder einer diffusen exsudativ-proliferativen GN entsprachen oder in Form einer mesangioproliferativen GN das Rückbildungsstadium einer postinfektiösen GN darstellten. Mit der PAP-Methode konnten allerdings nur 16 Fälle untersucht werden, so daß die glomerulären Veränderungen in den übrigen 12 Fällen hier unberücksichtigt bleiben sollen. Eine diffuse, exsudativ-proliferative GN vom typischen Erscheinungsbild einer postinfektiösen GN im frischen Stadium wurden in 3 Fällen angetroffen. Dabei zeigten sich in einem Fall sehr schwere und in 2 Fällen mäßiggradige histologische Veränderungen. Alle Glomerula waren bei diesen Fällen vergrößert und zellvermehrt. Dabei beruhte die Zellvermehrung auf einer deutlichen Proliferation von Endothel- und Mesangiumzellen, bei nur geringer Zunahme der mesangialen Matrix. Die Kapillarlumina enthielten vermehrt segmentkernige Granulozyten und waren nur mehr sehr schmal und blutleer. Die glomerulären Basalmembranen waren in allen Fällen zart und unauffällig. In 5 Fällen zeigten sich proliferative Veränderungen bei noch geringer exsudativer Komponente, die gut mit einem nicht mehr ganz frischen, in Rückbildung begriffenem Stadium einer postinfektiösen GN zu vereinbaren waren. Es stand bei diesen Fällen eine Proliferation von Mesangiumzellen im Vordergrund, sowie eine geringe Zunahme der mesangialen Matrix. Die Endothelzellen hingegen zeigten nur noch eine geringe Proliferation (2x) oder lediglich eine Schwellung (3x). Einige segmentkernige Granulozyten wurden immer wieder im Kapillarbereich angetroffen und hafteten offensichtlich am Endothel. Die restlichen 8 Fälle ließen wesent-

liche exsudative Veränderungen vermissen und nur in 3 Fällen waren gelegentlich noch segmentkernige Granulozyten in den Kapillarlumina zu sehen. Es lag somit lichtmikroskopisch eine mesangioproliferative GN vor, die 3 mal als mäßigstark und 5 mal als geringgradig eingestuft wurde.

Neben der Proliferation von Mesangiumzellen waren in 3 Fällen auch die Endothelzellen leicht vermehrt und in 4 Fällen zeigte sich eine diskrete Zunahme der mesangialen Matrix. Die Kapillarlichtungen waren in allen Fällen entfaltet und die glomerulären Basalmembranen zart und unverändert. Die histologischen Veränderungen in 16 Fällen von postinfektiöser GN entsprachen in der Mehrzahl der Fälle (13x) dem Bild einer mesangioproliferativen GN und somit einem bereits nicht mehr frischen bzw. abklingenden Stadium der Erkrankung. Eine exsudativ-proliferative GN, entsprechend einem akuten Stadium einer postinfektiösen GN, wurde nur 3 mal vorgefunden.

Eine zusammenfassende Darstellung der beschriebenen morphologischen Veränderungen gibt Tabelle 1 wieder.

3.1.2.2. Immunhistologische Befunde der IMF

Die IMF-Ergebnisse ergaben in 3 von 12 Fällen, deren Befunde mit PAP-Befunden vergleichbar waren, einen immunhistologisch negativen Befund mit allen Immunglobulinen und den Komplementfaktoren C3 und C4. Bei weiteren 6 Fällen ließen sich die Immunglobuline IgG, -A und -M, wie auch Fibrinogen nicht nachweisen, wohl aber Ablagerungen der Komplementfaktoren C3 und C4. Es lagen dabei in 3 Fällen isolierte C3-Befunde vor, die in 2 Fällen geringgradig waren; in einem Fall lag ein C3-Befund mit depotartigen Ablagerungen in den Mesangien vor. In 3 weiteren Fällen waren neben C3 auch geringe mesangiale C4-Fluoreszenzen beschrieben. Kapillarschlingen zeigten in einem Fall C3-positive Ablage-

rungen, die jedoch nicht sicher als epimembranöse Depots zu identifizieren waren, und in einem Fall geringe C3/C4-positive granuläre Fluoreszenzen in GBM-Bereichen. Nur in 3 von 16 Fällen waren neben den Komplementfaktoren C3 und C4 auch Ablagerungen von Immunglobulinen zu beobachten. Es handelte sich in einem Fall um IgG-, in einem Fall um IgM- und in einem Fall um IgG- und IgA-positive granuläre Anfärbungen, die alle in mesangiale Bereiche lokalisiert wurden. Kapillarschlingen zeigten bei einem Fall eindeutige, spärlich verteilte, extramembranöse IgG-positive Depots in Form sog. "Humps".

Die immunhistologischen Befunde der IMF bei 12 Fällen von postinfektiöser GN zeigten folglich in den meisten Fällen (9x) Ablagerungen der Komplementfaktoren C3 und C4, ohne die Anwesenheit von Immunglobulinen. Es herrschte eine mesangiale Ablagerungsform vor, und nur gelegentlich ließ sich eine Beteiligung von Kapillarschlingen erkennen.

Eine zusammenfassende Darstellung dieser IMF-Befunde gibt die Tabelle 2.

3.1.3. Ergebnisse der PAP-Methode

3.1.3.1. Anzahl der Fälle

Die Befunde der IMF in 28 Fällen von postinfektiöser GN konnten in 12 Fällen nicht mit den PAP-Ergebnissen verglichen werden, da sich in dem Schnittmaterial keine Glomerula auffinden ließen. Bei 4 Fällen mit PAP-Ergebnissen lagen keine IMF-Befunde vor, so daß nur bei insgesamt 12 Fällen ein Vergleich der Befunde von beiden Methoden möglich war.

3.1.3.2. Darstellung der PAP-Befunde

Die PAP-Ergebnisse wiesen in 16 Fällen von postinfektiöser GN ausnahmslos einen positiven immunhistologischen Befund auf; in wechselndem Ausmaß waren folgende Ab-

gerungen von Immunglobulinen und Komplementfaktoren zu beobachten:

IgG war in 9 von 16 Fällen das am häufigsten nachweisbare Immunglobulin und zugleich auch am intensivsten dargestellt. In 6 Fällen waren gering- bis mäßiggradige Ablagerungen in Form von meist feinen Granula in mesangialen Bereichen diffus verteilt. Die Kapillarschlingen enthielten in fast allen Fällen (8x) IgG-positive Ablagerungen, die sich meist als mehr bandartige, homogene Depots darstellten und in Fällen mit stärkerer exsudativer Komponente schlecht zu lokalisieren waren. Sehr feine granuläre Depots konnten in 5 Fällen an der Außenseite der GBM, in extramembranösen Bereichen beobachtet werden, ohne daß aber Depots in Form von subepithelialen "Humps" sicher abgegrenzt werden konnten. Daneben zeigten sich in 4 Fällen sehr feine und unregelmäßig verteilte subendotheliale Depots und in 3 Fällen IgG-positive Ablagerungen in Kapillarlumina. Das Bowman's Kapselepitheel enthielt in 2 Fällen feinste Granula. Extraglomerulär war IgG sehr häufig (7x) und z.T. auch ausgeprägt in tubulären Zellen als sehr feine Granula nachweisbar und auch in tubulären Zylindern (3x) und kleineren Gefäßen (1x) dargestellt. IgG lag dabei in allen Fällen zusammen mit Komplementfaktoren vor, und in 2 Fällen waren IgG und IgA sowie in einem Fall IgG und Fibrinogen in glomerulären Bereichen zu beobachten.

IgA war in 2 Fällen in geringem Ausmaß sowohl in den Mesangien, als auch als feine Depots in subendothelialer Lokalisation zu sehen und lag zusammen mit IgG und Komplementfaktoren vor. Extraglomerulär konnte IgA nicht nachgewiesen werden.

IgM zeigte in allen Fällen einen immunhistologisch negativen Befund und mit

Fibrinogen ließen sich in 2 Fällen Ablagerungen in Kapillarschlingen nachweisen, die jedoch keine abgrenz-

baren Depots erkennen ließen; bei einem Fall war Fibrinogen zusätzlich geringgradig in mesangialen Bereichen abgelagert.

Komplement C3 zeigte in allen 16 Fällen einen positiven Befund und war am konstantesten nachweisbar. Es konnte bei 9 Fällen mit geringgradigen Ablagerungen in den Mesangien beobachtet werden, und in 3 Fällen waren die Ablagerungen auf die Mesangien beschränkt. Die Kapillarschlingen enthielten in 13 Fällen positive Ablagerungen mit C3, die zumeist geringgradig (10x) und weniger häufig (6x) mäßiggradig ausgeprägt waren. Wie mit IgG, so war auch mit C3 eine eher bandartige, pseudolineare Ablagerungsform anzutreffen und äußerst feine Depots waren inkonstant in 7 Fällen an der Außenseite der GBM zu lokalisieren. Dabei herrste nur in einigen Kapillarschlingen der Eindruck von subepithelialen "Humps" vor (siehe Abb. 2).

In weiteren 4 Fällen sah man eher subendotheliale, feine Depots und in 2 Fällen konnten keine abgrenzbaren Depots nachgewiesen werden. Extraglomerulär fanden sich C3-positive Depots in Tubuluszellen (5x), tubulären Zylindern (3x) und selten in kleinen Gefäßen (1x).

Komplementfaktor C4 konnte in 4 Fällen nur in Spuren vorgefunden werden, und es zeigten sich lediglich spärliche Ablagerungen in Kapillarschlingen. Mit der PAP-Methode konnte somit in allen 16 Fällen von postinfektiöser GN ein positiver immunhistologischer Befund erhoben werden. Dabei lagen Komplementbefunde, in der Regel C3, in 7 Fällen ohne begleitende Immunglobulin-Ablagerungen vor. Eine kombinierte Ablagerung von IgG und C3 wurde in den übrigen 9 Fällen angetroffen, wobei die Immunglobulin-Befunde in den meisten Fällen stärker ausgeprägt waren, als diejenigen von C3. Hinsichtlich des Ausprägungsgrades wurden 5 von diesen 9 Fällen als geringgradiger, einer als mäßiggradiger und

3 als stark ausgeprägter immunhistologischer Befund eingestuft. Mit IgA, M und Fibrinogen sowie C4 ließen sich keine eindeutig positiven Befunde erheben.

Eine zusammenfassende Darstellung der PAP-Befunde in 16 Fällen von postinfektiöser GN verdeutlicht Tabelle 3.

In Abbildung 1 und 2 ist ein positiver PAP-Befund mit Komplement C3 photographisch dokumentiert, bei dem subepitheliale Depots in Form sog. "Humps" an einem Glomerulum abgegrenzt werden konnten.

Tab.1: Histologische Befunde in 16 Fällen von exsudativ-proliferativer GN (postinfektiöser GN).

	ANZAHL der FÄLLE	PROLIFERATION: MESANGIUM ZELLEN	PROLIFERATION: ENDOTHEL ZELLEN	ZUNAHME MESANGIALE MATRIX	SEGMENTKERNIGE GRANULOZYTEN	VERTEILUNG der VERÄNDERUNG
EXSUDATIVE und PROLIFERATIVE GN	3	3	3	1	3	D/G
PROLIFERATIVE und GERING EXSUDATIVE GN	5	5	2	3	5	D/G
MESANGIAL-PROLIFERATIVE GN	8	8	3	4	3	D/G

Tab.2: Immunhistologische Befunde der IMF in 12 Fällen von exsudativ-proliferativer GN (postinfektiöser GN).

(++ⁿ: Anzahl der Fälle)

DEPOT-LOKALISATION												
	MEMBRANÖS	MESANGIAL	BOWMAN'S KAPSEL	HALBMONDE	VÖLLIGE VERÖDUNG	SEGMENTALE VERÖDUNG	TBM DEPOTS	TUBULUS - ZELLEN DEPOTS	TUBULÄRE ZYLINDER	ARTERIOLEN-AA-DEPOTS	VERTEILUNG	FÄLLE NEG. / POS
IGG	++ ¹	++ ²	-	-	-	-	-	++ ²	++ ¹	-	D/G	10/2
IGA	++ ¹	++ ¹	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11/1
IGM	-	++ ¹	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11/1
Fibr.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/12
C 3	++ ⁴	++ ⁸	-	-	-	-	-	++ ⁴	-	++ ⁵	D/G	3/8
C 4	++ ³	++ ⁵	-	-	-	-	-	++ ²	-	-	D/G	7/5

DEPOT-LOKALISATION											
	MEMBRANÖS	MESANGIAL	BOWMAN'S KAPSEL	HALBMONDE	VÖLLIGE VERDÜNNUNG	SEGMENTALE VERDÜNNUNG	TBM DEPOTS	TUBULUS - ZELLEN DEPOTS	TUBULÄRE ZYLINDER	ARTERIOLLEN -AA-DEPOTS	VERTEILUNG
IGG	+++ ⁸	++ ⁶	++ ²	-	++ ¹	-	-	+++ ⁷	++ ³	+++ ¹	D/G
IGA	++ ²	++ ²	-	-	-	-	-	-	-	-	D/G
IGM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fibr.	++ ²	++ ¹	-	-	-	-	-	-	-	-	D/G
C 3	+++ ³	++ ⁹	-	-	-	-	-	++ ⁵	++ ³	++ ³	D/G
C 4	+++ ⁴	-	-	-	-	-	-	++ ¹	-	-	-
											FÄLLE POS. / NEG.
											7/9
											14/2
											16/0
											14/2
											0/16
											12/4

Tab.3: Immunhistologische Befunde der PAP-Methode in 16^a Fällen von exsudativ-proliferativer GN (postinfektiöser GN).

(++ⁿ: Anzahl der Fälle)

a: In 4 der 16 Fälle fehlte ein entsprechender IMF-Befund.

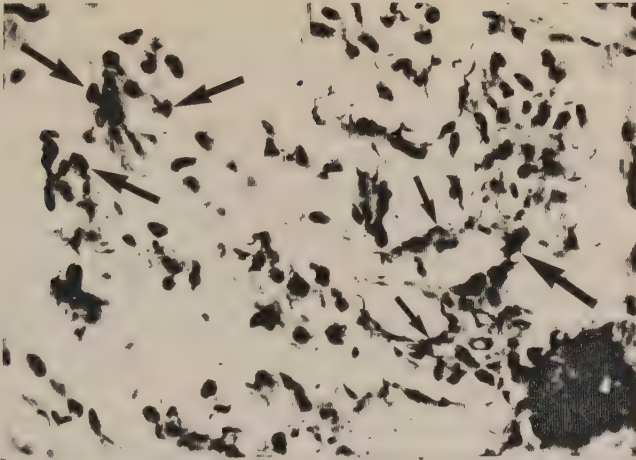


Abb.1: Exsudativ-proliferative GN (postinfektiöse GN). Granuläre Ablagerungen von Komplement C3 an der Innen- (→) und Außenseite (⇨) der glomerulären Kapillarwand. C3-positives Perigeßäß. (Ölimmersion, 1000fache Vergrößerung)

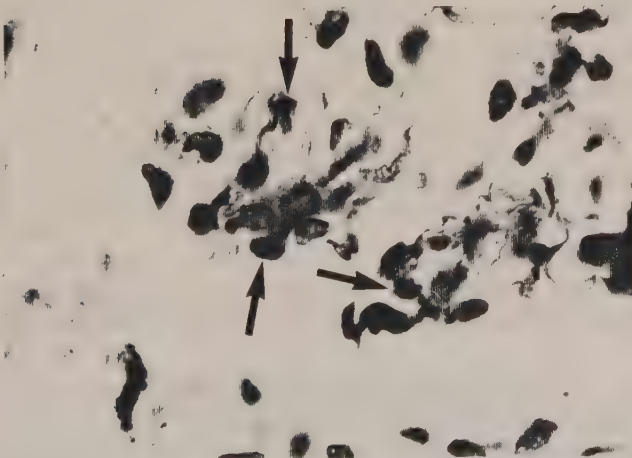


Abb.2: Exsudativ-proliferative GN (postinfektiöse GN). C3-positive, grobgranuläre subepitheliale Ablagerungen, in Form sog. "Humps" (⇨). (Ausschnitt von Abb.1; Ölimmersion, 12000fache Vergrößerung)

3.2. Mesangial-/ endokapillär- proliferative GN

3.2.1. Charakterisierung dieser GN-Form

Die mesangial-/ endokapillär-proliferative GN bzw. mesangioproliferative GN (MsPGN) nach BOHLE et al. (1984) macht nach KLAUS (1983) 16 bis 23% aller Glomerulonephritis-Fälle aus. Sie ist zudem die häufigste Form der proliferativen GN (JENIS und LOWENTHAL 1977; THOENES W. 1973, 1979, 1982) und wurde in dem vorliegenden Biopsiematerial in 77 Fällen vorgefunden. Abweichend von der Einteilung der Glomerulonephritiden nach W. THOENES (1979) sind sowohl die IgA-Nephritis als auch Restzustände nach postinfektiöser GN mit lichtmikroskopisch mesangialer Proliferation abgetrennt und gesondert betrachtet (siehe 3.1. und 3.3.). Dies erfolgte mit der Absicht, den Wert der PAP-Methode bei diesen, sowohl häufigen wie auch in differentialdiagnostischer Hinsicht wichtigen mesangioproliferativen GN herauszuarbeiten. Es verbleiben für die Besprechungen an dieser Stelle diejenigen Fälle, bei denen ein uncharakteristischer und negativer Immunbefund und eine betont mesangiale Zellproliferation vorlag. In 37 Fällen von mesangioproliferativer GN fehlte eine entsprechende IMF-Untersuchung, so daß mit der PAP-Methode retrospektiv die immunhistologische Zuordnung dieser Fälle von MsPGN zu den Formen der IgA-Nephritis, der exsudativ-proliferativen GN und der MsPGN im engeren Sinn möglich war.

3.2.2. Licht- und immunfluoreszenzmikroskopische Befunde

3.2.2.1. Lichtmikroskopische Veränderungen

Die lichtmikroskopischen Befunde zeigten bei 77 Fällen mit mesangioproliferativer GN in 30 Biopsien eine geringgradige, in weiteren 39 eine mäßiggradige und in

nur 8 eine hochgradige Verbreiterung der Mesangien. Diese war in der Mehrzahl der Fälle (54x) sowohl durch eine Proliferation von Mesangiumzellen als auch durch eine Vermehrung der mesangialen Matrix bedingt. Weniger häufig (19x) sah man eine vorherrschende Zellproliferation, bei nur geringer Zunahme der Mesangiummatrix. Befunde dieser Art lagen insbesondere bei nur gering ausgeprägter MsPGN vor.

Schließlich ergab sich in weiteren 4 Fällen eine im wesentlichen durch Matrixvermehrung bedingte Verbreiterung der Mesangien. Bei einer Glomerulumanzahl zwischen durchschnittlich 10 bis 20 pro Biopsie, betrafen die proliferativen Veränderungen in mehr als 2/3 der Fälle alle Glomerula gleichmäßig. Lediglich in 22 Fällen war eine fokale- und segmentale Akzentuierung zu sehen, ohne daß jedoch Veränderungen im Sinne einer Fokalsklerose vorgelegen hätten. Neben diesen rein proliferativen Veränderungen im mesangialen Bereich, war bei einer geringeren Anzahl von 14 Fällen auch eine unterschiedlich starke Mitbeteiligung der GBM anzutreffen, die in meist umschriebenen und vornehmlich geringgradigen Verdickungen oder Aufsplitterungen der glomerulären Membranen bestand. Schlingenvernarbungen, segmentale und völlige Verödung von Glomerula und sklerosiernde Veränderungen des Schlingenkonvolutes konnten ebenfalls in unterschiedlichem Ausmaß beobachtet werden.

Die beschriebenen Befunde sind in der tabellarischen Zusammenfassung (Tab. 4) dargestellt. Dabei wurde in Hinsicht auf später folgende Betrachtungen eine Aufteilung vorgenommen, die die An- bzw. Abwesenheit von zur Verfügung stehenden PAP- und IMF-Befunden berücksichtigt.

3.2.2.2. Immunhistologische Befunde der IMF

Immunhistologische IMF-Befunde standen in 40 von insgesamt 77 Biopsien zur Verfügung. In 11 Fällen davon konnte kein vergleichbarer PAP-Befund erhoben werden. Es

waren dies Biopsien, die Nierenmarkgewebe, aber keine Glomerula enthielten oder sehr starke artefizielle Veränderungen zeigten.

Negative IMF-Befunde an den Glomerula lagen in 5 der 40 Fällen vor, wobei jedoch in 3 Biopsien ein C3-positiver Befund an Arteriolen und kleineren Gefäßen beobachtet wurde. Bei weiteren 3 Fällen zeigte sich für alle Immunglobuline ein negativer, für Komplement C3 ein gering positiver und Überwiegend mesangialer Befund, ohne daß jedoch eine abschließende Diagnose möglich gewesen wäre. Nur geringgradige Befunde wurden in 9 Fällen erhoben, bei denen ein untypisches Fluoreszenzmuster ohne genaue Lokalisation (5x) oder ein geringgradig mesangialer Befund (4x) vorlag. IgM war dabei am häufigsten nachweisbar (7x), ebenso C3 (7x) und inkonstanter auch IgG und IgA. Fibrinogen war abwesend, und Gefäße waren überwiegend negativ. Insgesamt ergab die IMF somit in 17 von 40 Fällen einen negativen Befund (8x), unspezifische Minimalbefunde (5x) mit IgM und C3 oder nur geringe uncharakteristische mesangiale Befunde (4x). IgM und IgG waren dabei jeweils in 2 Fällen, IgA in einem und C3 in allen 4 Fällen, einmal isoliert, nachweisbar. Die lichtmikroskopischen Befunde entsprachen dabei geringgradigen mesangioproliferativen Veränderungen.

Die restlichen 23 Biopsien zeigten positive immunhistologische Befunde mit hauptsächlich mesangialen Ablagerungen (12x), die nicht genauer lokalisierbare Depots (5x), und in 5 Fällen ein fokal-segmentales Muster zeigten. In keinem Fall war dieses fokal-segmentale Muster als Fokalsklerose zu werten, da entsprechende lichtmikroskopische Befunde fehlten.

Bei den 23 immunhistologisch positiven Fällen waren die Immunglobuline und Komplementfaktoren folgendermaßen verteilt:

IgG-Ablagerungen waren in 8 Fällen anzutreffen, 3 mal in ausschließlich membranösen Bereichen, gleich häufig

mesangial und 2 mal mit nicht genauer lokalisierbaren Depots. Die IgG-Ablagerungen waren überwiegend mit Ablagerungen von IgA, IgM und C3 kombiniert. IgA und IgM wurden gleich häufig in je 16 Fällen nachgewiesen. Sie waren am häufigsten zusammen anzutreffen (10x), etwa gleich häufig auch als alleiniges Ig (IgA in 6, IgM in 7 Fällen). IgA konnte in 14 Fällen mesangial lokalisiert werden; in 4 Fällen bestand gleichzeitig auch eine Beteiligung von Kapillarschlingen. Mit IgM fanden sich ebenfalls überwiegend Depots in den Mesangien, doch waren auch Depots in der GBM häufiger zu beobachten, die in 2 Fällen die ausschließliche Lokalisation darstellten. Mit Fibrin/Fibrinogen konnte in keinem Fall ein eindeutiger Befund erhoben werden.

C3 wurde in fast allen Fällen (20x) angetroffen und war dabei mesangial lokalisiert. Vergleichbar mit den Immunglobulinen ergaben sich auch für C3 in einem geringeren Teil von 4 Fällen Ablagerungen in Kapillarschlingen. Dabei waren kleinere Gefäße, Arteriolen und Polgefäße regelmäßig mitbeteiligt.

C4 war in 10 Fällen positiv und konnte in der Hälfte der Fälle mesangial lokalisiert werden.

Die immunhistologischen Ergebnisse der IMF ergaben somit bei 32 positiven Fällen ein mesangiales Muster mit IgA und IgM, geringer auch mit IgG.

C3 war konstant in mesangialen Bereichen und in Gefäßen nachweisbar; C4 ebenfalls, jedoch inkonstanter und von geringem Ausmaß. Immunglobuline, wie auch Komplementfaktoren, ließen immer wieder eine Mitbeteiligung des Schlingenkonvolutes erkennen.

Eine zusammenfassende Darstellung dieser IMF-Befunde verdeutlicht Tabelle 5.

3.2.3. Ergebnisse der PAP-Methode

3.2.3.1. Anzahl der Fälle

Mit der PAP-Methode wurden 77 Biopsien von mesangioproliferativer GN untersucht. Das Material war in 25 Fällen davon nicht auswertbar, da es nur Nierenmarkgewebe enthielt und Glomerula vermissen ließ. Bei 11 dieser 25 Fälle war ein entsprechender IMF-Befund vorhanden, der bei den dargestellten IMF-Ergebnissen beschrieben wurde. Weitere 14 Fälle, die mit der PAP-Methode nicht bewertet werden konnten, enthielten keinen IMF-Befund. Es verblieben damit 52 Fälle, bei denen PAP-Befunde erhoben wurden. In 29 Fällen waren sie mit der IMF vergleichbar, in 23 Fällen fehlte ein immunhistologischer Befund. Die Ergebnisse sollen im folgenden getrennt dargestellt werden, da, wie eingangs erwähnt, unterschiedliches Biopsiematerial zugrunde lag.

3.2.3.2. Darstellung der PAP-Befunde bei vorliegenden IMF-Befunden

In 4 von 29 Fällen wurde ein negativer PAP-Befund für alle Immunglobuline, wie auch Komplementfaktoren erhoben. Weitere 5 Fälle zeigten einen negativen Ig-Befund in den Glomerula, bei gering positiven tubulären Zylindern in 3 Fällen (mit IgM am ausgeprägtesten, jedoch geringer auch mit IgG und IgA). Ein isolierter IgM-Befund an Polgefäßen ließ sich in einem Fall darstellen.

C3 alleine war in einem Fall mesangial vorhanden, in einem weiteren uncharakteristisch in den Glomerula verteilt und in einem Fall nur in zwei segmental verödeten Glomerula zu sehen. Gefäße waren in allen Fällen nicht positiv dargestellt. Die verbleibenden 20 Fälle zeigten mit der PAP-Methode einen immunhistologisch eindeutig positiven Befund. Mit den einzelnen Ig-Arten und Komplementfaktoren ergaben sich dabei folgende Befunde:

IgG war in 7 Fällen gänzlich abwesend, in 3 weiteren nur

in Spuren, mesangial (1x), in segmental verödeten Bereichen (1x) und tubulären Zylindern (1x) nachweisbar. Immunhistologisch konnte diesen Befunden keine Bedeutung zugemessen werden. Ein positiver Befund vom perimembranösen Typ mäßiggradigen Ausmaßes wurde in einem Fall angetroffen, wobei neben IgG auch C3 in dieser Lokalisation nachweisbar war. Nur bei einem Fall fanden sich geringgradige Ablagerungen in Kapillarschlingen. In 7 Fällen wurden geringgradige mesangiale Depots beobachtet, und IgG lag 2 mal davon in Kombination mit IgM, 4 mal mit IgA und einmal mit C3 in ebenfalls mesangialer Position vor. Depots im Kapillarlumen waren bei 2 Fällen vorhanden. Ablagerungen wurden außerdem noch im Bowman's Kapselepithel (1x), in segmental verödeten Bereichen (2x) und in einigen völlig verödeten Glomerula beobachtet. Diese Veränderungen betrafen alle Glomerula gleichmäßig. Tubuluszellen enthielten in 3 Fällen feine Granula geringen Ausmaßes; bei 2 dieser Fälle lagen zusätzlich auch positive tubuläre Zylinder vor. Ablagerungen in Gefäßen zeigten sich bei 5 Fällen in geringer Intensität.

IgA war bei 12 Fällen in den Glomerula negativ, in 3 Fällen sah man geringgradige IgA-Anfärbungen von tubulären Zylindern und Zellen. Alle 8 mit IgA positiven Fälle zeigten gering- bis mäßiggradige immunhistologische Veränderungen der Mesangien, in 2 Fällen mit zusätzlichen GBM-Depots, in 6 Fällen rein mesangial. Das Bowman's Kapselepithel enthielt in zwei Glomerula eines Falles feine Granula, und mehr diffuse Anfärbungen einiger segmental verödeten Glomerula sah man in 2 Fällen. Wie mit IgG, so betrafen die Veränderungen auch mit IgA nahezu alle Glomerula gleichmäßig.

Hinsichtlich der Ig-Zusammensetzung war IgA nur in 1 Fall zusammen mit IgM anzutreffen, jedoch regelmäßig (9x) mit C3. Kombinationen mit IgG lagen in 3, mit Fibrinogen in 2 weiteren Fällen vor.

Außerhalb der Glomerula sah man Depots geringen Ausmaßes in tubulären Zellen (2x), tubulären Zylindern (2x) und Gefäßen (3x).

IgM war in 9 Fällen positiv, in 2 davon nur in Glomerula mit segmentaler Verödung. Bei 11, mit IgM negativen Fällen, waren in 2 Fällen mehr homogene Anfärbungen in verödeten Glomerula zu sehen. Wie auch mit IgG und IgA, waren IgM-Depots hauptsächlich in den Mesangien lokalisiert. In 5 Fällen lag IgM als alleiniges Ig vor, in einem Fall zusammen mit IgG und in einem Fall mit IgA. Extraglomerulär war es in 4 Fällen in kleineren Gefäßen und Arteriolen nachweisbar.

Fibrinogen war so gut wie negativ und nur in 6 Fällen mit sehr geringen Depots mesangial vorhanden.

C3 war in 13 Fällen positiv und regelmäßig in mesangialen Bereichen (12x) anzutreffen. Bei einem Fall wurde es nur in segmental verödeten Glomerula angetroffen, in 4 Fällen auch in Kapillarschlingen. Tubuluszellen enthielten in 3 Fällen C3-positive Granula; Gefäße waren in 3 Fällen positiv.

Die Ergebnisse für C4 waren praktisch negativ, ausgenommen 3 Fälle mit sehr geringen mesangialen Depots und positiven Gefäßen.

Die PAP-Befunde bei 20 immunhistologisch positiven Fällen von mesangioproliferativer GN ergaben Ablagerungen, die überwiegend in mesangialen Bereichen zu lokalisieren waren (siehe Abb. 3 und 4). Daneben wurden mit allen Ig-Arten und auch mit C3 immer wieder Depots in Kapillarschlingen beobachtet. Feine granuläre Depots des Bowmanns Kapselepthels waren selten nachweisbar, ebenso Anfärbungen in völlig verödeten Glomerula. In 2 Fällen fanden sich Depots in segmental verödeten Glomerula, nicht dagegen in normal erscheinenden Glomerula. IgA und IgM (siehe Abb. 3) waren am häufigsten anzutreffen und von meist geringgradiger, weniger häufig auch von mäßiggradiger Farbtintensität. IgG war gleich häufig wie IgA

in mesangialen Bereichen zu beobachten (siehe Abb. 4), lag aber immer zusammen mit IgA und/oder IgM vor. Anders in jeweils 5 Fällen, bei denen ein reiner IgA- bzw. IgM-Befund vorlag und von C3-Ablagerungen begleitet war. Kleinere Gefäße und vereinzelt auch Polgefäße waren in einem geringen Teil der Fälle positiv. Eine zusammenfassende Darstellung der PAP-Ergebnisse zeigt die Tabelle 6.

3.2.3.3. Darstellung der PAP-Befunde bei fehlenden IMF-Befunden

Es standen PAP-Ergebnisse zur Verfügung bei 23 Fällen, die nicht immunhistologisch untersucht waren. Dabei wurden in 5 Fällen als unspezifisch zu bezeichnende Ablagerungen mit allen Ig-Arten vorgefunden. Weitere 4 Fälle zeigten Minimalveränderungen mit isolierten, sehr geringen mesangialen C3-Depots bzw. Fibrinogen-Depots in jeweils 2 Fällen. In 14 Fällen ergaben sich damit als positiv bewertete PAP-Befunde. Histologisch lag bei diesen 14 Fällen in 12 Fällen eine mäßiggradige und in 2 Fällen eine nur geringgradige mesangioproliferative GN vor. Mit den einzelnen Ig-Arten und Komplementfaktoren C3/C4 konnten folgende Ergebnisse erzielt werden: IgG war in 11 von 14 Fällen positiv und nur in 3 Fällen nicht nachweisbar. Es war dabei in allen 11 Fällen in mesangialen Bereichen mit gering- bis mittelgradiger Intensität vorhanden. In 6 Fällen waren zusätzliche Depots in peripheren Kapillarschlingen zu sehen, während in den restlichen 5 Fällen IgG nur in den Mesangien lokalisierbar war. IgG lag dabei in 5 Fällen zusammen mit IgM vor und auch C3 war in diesen Fällen regelmäßig nachweisbar. Ein Fall ergab einen positiven Befund für IgG, IgA und C3, 2 Fälle einen positiven Befund für IgG, A, M und C3. Extraglomerulär konnte IgG in 4 Fällen in kleineren Gefäßen beobachtet werden.

IgA war in 6 Fällen geringgradig positiv und in 8 Fällen nicht in den Glomerula nachweisbar. In 3 Fällen war IgA rein mesangial lokalisiert, in einem Fall fanden sich zusätzliche Depots in peripheren Kapillarschlingen. Zwei weitere Fälle ließen Depots nur im GBM-Bereich, nicht aber in den Mesangien erkennen. Tubuläre Zylinder und kleinere Gefäße waren vereinzelt positiv, zum Teil bei negativen glomerulären Befunden.

IgM war in 8 Fällen positiv und in 6 Fällen negativ. Es war damit weniger häufig als IgG (11x), aber öfters als IgA (6x) anzutreffen. Wie mit IgG, war auch IgM in allen Fällen mit geringgradiger Intensität in den Mesangien zu finden und zeigte in 2 Fällen davon zusätzliche Depots in Kapillarschlingen. Es lag dabei in allen Fällen mit anderen Immunglobulinen kombiniert vor: in 5 Fällen zusammen mit IgG, in 2 Fällen mit IgM und IgA und in einem Fall mit Fibrinogen. Bis auf einen Fall waren diese Befunde von C3-Ablagerungen begleitet. Extraglomerulär stellten sich vereinzelt IgM-positive kleine Gefäße und tubuläre Zylinder dar.

Fibrinogen-positive Depots wurden in 6 von 14 Fällen beobachtet. Es lag dabei nur in einem Fall rein mesangial vor. In 2 Fällen sah man Ablagerungen in den Mesangien wie auch in Kapillarschlingen und in 3 Fällen nur Ablagerungen in GBM-Bereichen. Diese 3 Fälle zeigten auch Depots in kleinen Gefäßen.

C3 war in 12 von 14 Fällen positiv. Bei den 2 Fällen, die C3-negativ waren, lag in einem Fall ein alleiniger Immunglobulin-Befund mit IgG und IgM und im anderen Fall außerdem mit IgA vor. C3-positive Depots mäßigen Grades wurden in 10 Fällen in peripheren Kapillarschlingen gesehen und waren in 5 Fällen davon ausschließlich dort lokalisiert. In weiteren 5 Fällen lagen Depots in den Mesangien und Kapillarschlingen vor, und nur in 2 Fällen war C3 auf mesangiale Bereiche begrenzt. Extraglomerulär waren C3-Ablagerungen bei 2

Fällen in Gefäßstrukturen anzutreffen.

C4 war bis auf sehr geringe Anfärbungen in Kapillarschlingen in allen Fällen negativ. Von 23 Fällen mit mesangioproliferativer GN zeigten 14 Fälle einen positiven immunhistologischen Befund mit der PAP-Methode. Es herrschte ein mesangiales Muster mit IgG, IgM und geringer auch mit IgA und Fibrinogen vor. Auffallend häufig waren Depots in den Kapillarschlingen zu beobachten. Die Schlingen sahen über kurze Strecken durch die Ablagerungen wie nachgezeichnet aus, und Depots in Form einzelner Granula waren nicht zu erkennen. Diese Befunde waren besonders häufig mit IgG, Fibrinogen und vor allem mit C3 zu beobachten. Extraglomerulär stellten sich in erwähnenswertem Umfang nur kleinere Gefäße und Arteriolen dar.

Eine Übersicht dieser Befunde zeigt die Tabelle 7.

In Abbildung 3 und 4 ist der PAP-Befund bei einer sog. "Non-IgA-Nephritis" mit IgG- und IgM-positiven Ablagerungen in den Mesangien wiedergegeben.

Tab.4: Histologische Befunde in 77^a Fällen von mesangio-proliferativer GN.

a: In 25 der 77 Fälle lag für die PAP-Methode nur Nierenmarkgewebe vor.

LM-BEFUNDE gemäß d. vorh. PAP / IMF-BEFUNDEN

SCHWERE der MsPGN	GESAMT (77)	PAP mit IMF (29)	PAP ohne IMF (23)	PAP ohne GL mit IMF (11)	PAP ohne GL ohne IMF (14)
GERINGGRADIG	30	14	5	4	7
MÄSSIGGRADIG	39	11	17	5	6
HOCHGRADIG	8	4	1	2	1
MESANGIUM-VERBREITERUNG					
ZELL und MATRIXZUNAHME	54	20	13	9	12
ZELLPROLIFERATION	19	7	8	2	2
MATRIXZUNAHME	4	2	2	0	0
VERTEILUNG					
DIFFUS / GLOBAL	55	20	19	6	10
FOKAL / SEGMENTAL	22	9	4	5	4
ZUSÄTZLICHE BEFUNDE					
GBM-VERÄNDERUNGEN	14	7	3	2	2
VERÖDETE GLOMERULA	29	16	8	3	2
SCHLINGENVERNARBUNG	14	8	2	2	2

DEPOT-LOKALISATION												
	MEMBRANOS	MESANGIAL	BOWMAN'S KAPSEL	HALBMONDE	VÖLLIGE VERODUNG	SEGMENTALE VERODUNG	T B M DEPOTS	TUBULUS - ZELLEN DEPOTS	TUBULÄRE ZYLINDER	ARTERIOLEN -AA-DEPOTS	VERTEILUNG	FÄLLE POS. / NEG.
IGG	+++ ⁶	+++ ¹¹	-	-	-	-	-	++ ¹	-	++ ⁴	D/G	12/11
IGA	++ ³	++ ⁴	-	-	-	-	-	++ ¹	++ ⁵	++ ²	D/G	17/6
IGM	++ ²	++ ⁸	-	-	++ ¹	++ ¹	-	++ ¹	++ ²	++ ²	D/G	15/8
Fibr	+++ ⁵	++ ³	-	-	-	-	-	-	-	++ ³	D/G	17/6
C 3	+++ ¹⁰	++ ⁷	-	-	-	-	-	-	-	++ ²	D/G	11/12
C 4	++ ¹	-	-	-	-	-	-	-	-	++ ¹	D/G	23/0

Tab.7: Immunhistologische Befunde der PAP-Methode in 23 Fällen von mesangioproliferativer GN ohne IMF-Befund.

(++ⁿ: Anzahl der Fälle)

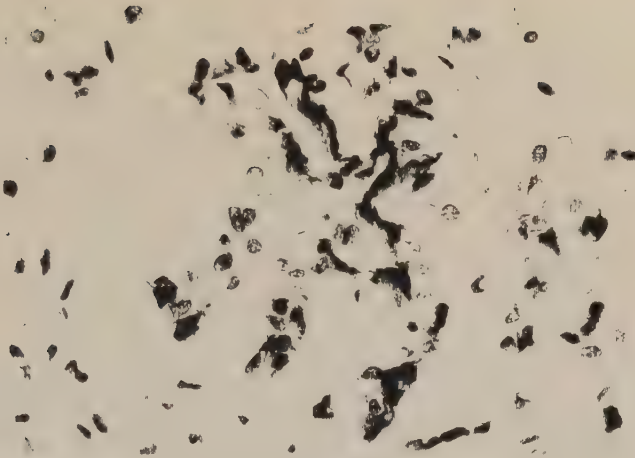


Abb.3: Mesangioproliferative GN vom Typ der sog. "Non-IgA-Nephritis". Granuläre, globale Ablagerungen von IgM-positiven Depots vornehmlich in den Mesangien.
(Ölimmersion, 1000fache Vergrößerung)



Abb.4: Mesangioproliferative GN. Gleicher Fall, wie in Abb.3 mit gleichartigen Ablagerungen von IgG in den Mesangien.
(Ölimmersion, 12000fache Vergrößerung)

3.3. IgA-Nephritis

3.3.1. Charakterisierung dieser GN-Form

Die mesangiale IgA-Nephritis wurde von BERGER (1969) erstmals als eigenständige Form einer Glomerulonephritis beschrieben. Sie stellt mit 20% die häufigste Form der Glomerulonephritis dar (JENIS und LOWENTHAL 1977; RAMBAUSEK et al. 1983) und wurde in dem eigenen Biopsiematerial in 40 von 268 Fällen, entsprechend 15%, vorgefunden. Klinisch ist die IgA-Nephritis durch eine persistierende oder rekurrende Mikrohämaturie, wie auch durch Episoden von Makrohämaturie gekennzeichnet (DAVIES et al. 1973; McENERY et al. 1973). Die lichtmikroskopischen Veränderungen bei der IgA-Nephritis sind uneinheitlich, wobei man sowohl eine globale Verbreiterung der Mesangien (McENERY et al. 1973; GÄRTNER et al. 1979), als auch mehr segmentale Veränderung mit Vermehrung der mesangialen Zellen und Matrix finden kann (BERGER 1969; BURKHOLDER 1973; DAVIES et al. 1973; RAMBAUSEK 1983). Immunhistologischen Untersuchungen kommt, neben der Histologie und Klinik, eine entscheidende Rolle in der Diagnosestellung zu, da die IgA-Nephritis durch ein spezifisches immunhistologisches Befundmuster mit dominierenden IgA-Ablagerungen im Mesangium charakterisiert ist (BOHLE et al. 1984).

3.3.2. Licht- und immunfluoreszenzmikroskopische Befunde

3.3.2.1. Lichtmikroskopische Veränderungen

In dem vorliegenden Biopsiematerial lagen 40 Fälle von IgA-Nephritis vor. In 31 Fällen konnten die PAP-Befunde einem Vergleich mit den Befunden der IMF unterzogen werden. Die dabei vorgefundenen histologischen Veränderungen bei diesen 31 Fällen von IgA-Nephritis

sollen im einzelnen dargestellt werden. Sehr geringe mesangioproliferative Veränderungen lagen in 11 Fällen vor. Der glomeruläre Befund war an einem Teil der Glomerula völlig unauffällig, bei anderen waren die Mesangien leicht akzentuiert. Diese Betonung der Mesangien war in 5 Fällen durch eine Matrixzunahme, in 5 Fällen durch eine Mesangiumzellproliferation bei gleichzeitiger Matrixvermehrung und in einem Fall durch eine alleinige Proliferation von Mesangiumzellen bedingt. Deskriptiv wäre bei diesem Fall die histologische Diagnose einer sog. Minimalglomerulitis gestellt worden. Unter Berücksichtigung des positiven IMF-Befundes entsprachen alle Fälle einer sehr geringen IgA-Nephritis. Eine mesangioproliferative GN mit geringgradigen glomerulären Veränderungen wurden in 10 Fällen angetroffen. Die Mesangiumverbreiterung betraf dabei in 9 Fällen alle Glomerula gleichmäßig und zeigte nur in einem Fall eine segmental betonte Matrixzunahme. In den meisten Fällen (8x) war eine gleichzeitige Mesangiumzell- und Matrixvermehrung zu sehen und nur bei jeweils einem Fall überwog die Zellproliferation oder die Matrixzunahme. Die glomerulären Basalmembranen waren zart und nur in 2 Fällen lagen segmentale Schlingenvernarbungen an einigen Glomerula vor.

In 9 Fällen handelte es sich um mittelschwere mesangioproliferative Veränderungen, die in 4 Fällen fokal-segmental und in 5 Fällen diffus ausgeprägt waren. Eine überwiegende Matrixzunahme wurde in 4 Fällen, eine zusätzliche Mesangiumzellproliferation in 5 Fällen beobachtet. Segmentale Schlingenvernarbungen wurden in 3 Fällen an einigen Glomerula angetroffen. Die Basalmembranen stellten sich unauffällig dar, und alle Fälle waren vom histologischen Bild her gut mit einer IgA-Nephritis zu vereinbaren. Nur in einem Fall fanden sich neben mäßigschweren mesangialen Veränderungen auch Verdickungen an den peripheren Kapillarschlin-

gen, die in der Trichromfärbung als subendotheliale Ablagerungen imponierten. Aufgrund des IMF-Befundes wurde auch dieser Fall als IgA-Nephritis eingestuft. Das histologische Bild entsprach somit in der Mehrzahl der Fälle von IgA-Nephritis (21x) einer sehr geringen oder geringgradigen mesangioproliferativen Glomerulonephritis. Mäßiggradige Befunde lagen seltener vor und zeigten etwa zur Hälfte ein fokal-segmentales Verteilungsmuster. Im allgemeinen aber waren die mesangialen Veränderungen in diesem Biopsiegut diffus verteilt und betrafen die Glomerula gleichmäßig. Dabei beruhte die Verbreiterung der Mesangien in erster Linie auf einer gleichzeitigen Zunahme von Mesangiumzellen und -matrix (18x) und in geringerem Umfang (10x) auf einer Überwiegenden Matrixvermehrung. Selten wurden segmentale Schlingenvernarbungen, völlig verödete Glomerula und Verdickungen der GBM (1x) angetroffen. Nachstehende Übersicht faßt die beschriebenen Veränderungen der histologischen Befunde zusammen (Tab. 8).

3.3.2.2. Immunhistologische Befunde der IMF

Die Diagnose einer IgA-Nephritis wurde in diesen 31 Fällen von mesangioproliferativer GN mittels der IMF gestellt und dementsprechend standen immunhistologisch positive mesangiale Befunde mit IgA ganz im Vordergrund. Hinsichtlich der Ausprägung wurden 9 der 31 Fälle als geringgradige und 6 als mittelgradige IgA-Nephritis eingestuft. In 2 Fällen zeigten sich stark positive mesangiale IgA-Befunde. In den restlichen 14 Fällen fehlten leider genauere Angaben zum Ausmaß der IgA-Ablagerungen. Diese Befunde wurden bei 4 Fällen als typische IgA-Nephritis gewertet, und in 10 Fällen waren die mit IgA positiven Ablagerungen am wahrscheinlichsten mit dem Bild einer IgA-Nephritis in Einklang zu bringen. In einem größeren Teil der Fälle (16x) waren keine umschriebenen Depots abgrenzbar und die Mesangien durch eine netz-

artige, faserige Fluoreszenz dargestellt. Abgrenzbare, fein-granuläre Depots mit IgA wurden in 6 Fällen beschrieben. Eine fokale Betonung ließ sich in 4 Fällen und ein mehr segmentales IgA-Muster in weiteren 4 Fällen nachweisen. Neben typischen Befunden in den Mesangien waren in 4 Fällen endomembranöse IgA-Depots dargestellt. Extralomerulär fand sich IgA in tubulären Zylindern, Tubuluszellen und selten auch in Polgefäßen. Neben IgA fand sich in 13 Fällen auch ein geringgradiger IgG- und in 10 Fällen ein IgM-positiver Befund. Beide Immunglobuline waren in mesangialen Bereichen lokalisiert, und nur gelegentlich ließen sich Depots in Kapillarschlingen nachweisen. Fibrinogen-positive, geringgradige Fluoreszenzen lagen in rein mesangialer Lokalisation in 8 Fällen vor.

Komplement C3 wurde zusammen mit IgA in fast allen Fällen (28x) von IgA-Nephritis in mesangialen Bereichen angetroffen. Zusätzlich war es noch häufig in Polgefäßen vorhanden.

C4 hingegen ließ sich nur in 7 Fällen mit geringen Ablagerungen nachweisen.

Die IMF-Befunde zeigten somit meist mäßiggradige IgA- und geringgradigere C3-positive Ablagerungen in den Mesangien. Zusätzlich konnte in einem Teil der Fälle auch IgG (12x), IgM (9x), Fibrinogen (8x) und C4 (7x) nachgewiesen werden.

Eine zusammenfassende Darstellung dieser IMF-Befunde zeigt Tabelle 9.

3.3.3. Ergebnisse der PAP-Methode

3.3.1. Anzahl der Fälle

In dem vorliegenden Biopsiematerial lagen insgesamt 40 Fälle von IgA-Nephritis vor, wobei in 9 Fällen mit der PAP-Methode infolge fehlender Glomerula keine Beurteilung möglich war. Die PAP-Befunde waren somit in 31 Fällen mit entsprechenden IMF-Befunden vergleichbar.

3.3.3.2. Darstellung der PAP-Befunde bei vorliegenden IMF-Befunden

Die PAP-Ergebnisse zeigten in 10 von 31 Fällen einen negativen glomerulären Befund mit allen Reagenzien. In der Hälfte dieser negativen Fälle enthielt das Biopsiematerial nur ein bis zwei Glomerula und in weiteren 5 Fällen war der PAP-Befund an durchschnittlich vier Nierenkörperchen negativ. Dabei zeigte sich in allen Schnitten eine unterschiedlich ausgeprägte Anfärbung in tubulären Zellen und Zylindern, die vor allem mit IgA und IgG positiv waren.

Artefizielle Veränderungen der Biopsiezylinder lagen in 6 Fällen vor, da dieses Material vor der Paraffineinbettung für die IMF gefroren war.

Ein unspezifischer PAP-Befund, bei dem mit allen Immunglobulinen nicht zu lokalisierende Anfärbungen in glomerulären Strukturen vorlagen, wurde in einem Fall angetroffen.

In 7 weiteren Fällen sah man in mesangialen Bereichen vereinzelt IgA-positive Depots, ohne daß ein eindeutig positiver Befund, der mit einer IgA-Nephritis zu vereinbaren gewesen wäre, vorgelegen hätte. Diese Beobachtungen wurden als Minimalbefund interpretiert. Neben IgA waren in 3 Fällen auch IgG, in 4 Fällen IgM und in 2 Fällen Fibrinogen in Spuren in mesangialen Bereichen zu sehen. In peripheren Kapillarschlingen zeigten sich in 3 Fällen positive Anfärbungen, die vor allem IgG, -M und Fibrinogen enthielten. Die Komplementfaktoren C3 und C4 waren in keinem Fall nachweisbar.

Nur in 13 Fällen konnte ein eindeutig positiver mesangialer Befund mit IgA erhoben werden, der in 6 Fällen geringgradig und in 7 Fällen mäßig stark ausgeprägt war (siehe Abb. 5). Die Anfärbungen waren in diesen Fällen als fein- bis mittelgrobe Granula abgrenzbar und zeigten ein durchwegs globales Verteilungsmuster. Periphe-

re Kapillarschlingen enthielten in 5 Fällen IgA-positive Ablagerungen (siehe Abb.5) und extraglomerulär fand sich IgA vor allem in tubulären Zylindern und Zellen. Geringgradige mesangiale, IgG-positive Depots lagen in 5 von 13, mit der PAP-Methode positiven Fällen vor und zeigten in 2 Fällen auch eine Beteiligung von peripheren Kapillarschlingen. Auch mit IgM und Fibrinogen wurden in jeweils 5 Fällen geringgradige Depots in den Mesangien beobachtet, wobei von beiden Immunglobulinen zusätzliche Ablagerungen auch in Kapillarschlingen vorkamen.

Nur in einem Fall waren neben geringgradigen mesangialen IgA-Depots, deutliche subepitheliale Depots abgrenzbar, die sich nur mit IgA positiv darstellen ließen. Ein positiver mesangialer Befund mit C3 konnte nur in insgesamt 2 Fällen erhoben werden, und C4 war in allen Fällen gänzlich negativ. Eine IgA-Nephritis konnte mit der PAP-Methode demnach in 13 von 31 Fällen gesichert werden. In weiteren 7 Fällen lagen mit der PAP-Methode nur sehr diskrete IgA-positive Befunde vor, die das Vorliegen einer IgA-Nephritis annehmen ließen. In über der Hälfte der Fälle waren immunhistologisch durch die IMF gesicherte IgA-Nephritiden mit der PAP-Methode folglich nicht bzw. nicht sicher diagnostizierbar.

Eine zusammenfassende Darstellung der beschriebenen PAP-Ergebnisse verdeutlicht Tabelle 10. In Abbildungen 5 und 6 ist ein mäßiggradig ausgeprägter PAP-Befunde mit IgA in den Mesangien wiedergegeben, wie er bei 7 Fällen beobachtet wurde.

DEPOT LOKALISATION												
	MEMBRANOS	MESANGIAL	BOWMAN'S KAPSEL	HALBMONDE	VÖLLIGE VERODUNG	SEGMENTALE VERODUNG	T B M DEPOTS	TUBULUS - ZELLEN DEPOTS	TUBULÄRE ZYLINDER	ARTERIOLEN -AA-DEPOTS	VERTEILUNG	FÄLLE POS. / NEG.
IGG	++ ²	++ ⁵	-	-	-	-	-	++ ²	++ ²	-	D/G	26/5
IGA	++ ⁵	++ ⁴	-	-	-	-	-	++ ⁵	++ ⁶	-	D/G	18/13
IGM	++ ⁵	++ ⁵	+++ ¹	-	+++ ¹	-	-	++ ²	++ ²	++ ³	D/G	23/8
Fibr	++ ⁷	++ ⁵	-	-	+++ ¹	-	-	-	-	-	D/G	23/8
C 3	-	++ ²	-	-	-	-	-	-	-	-	D/G	29/2
C 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31/0

Tab.10: Immunhistologische Befunde der PAP-Methode in 31 Fällen von IgA-Nephritis.

(++ⁿ: Anzahl der Fälle)

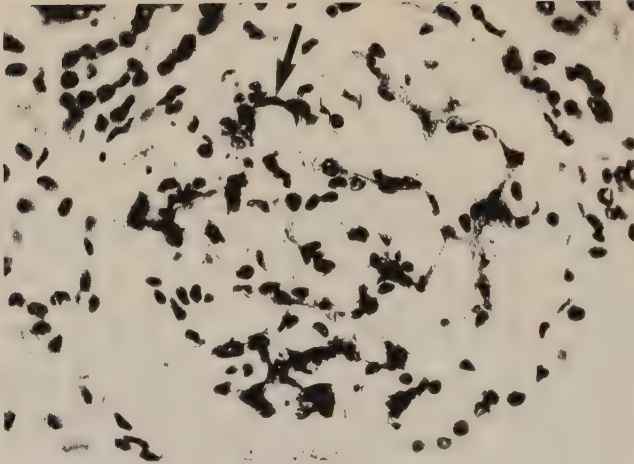


Abb.5: IgA-Nephritis.
Flächenhafte Ablagerungen von IgA in den Mesangien und bandartige IgA-positive Ablagerung in einer peripheren Kapillarschlinge (→).
(Ölimmersion, 1000fache Vergrößerung)



Abb.6: IgA-Nephritis.
Mesangiale, mehr flächenhafte Ablagerungen von IgA in den Mesangien.
(Ausschnitt von Abb.5; Ölimmersion, 12000fache Vergrößerung)

3.4. Intra- und extrakapillär-proliferative GN

3.4.1. Charakterisierung dieser GN-Form

Glomerulonephritiden mit relativ geringen proliferativen Veränderungen am Schlingenkonvolut, aber ausgeprägten extrakapillären Proliferationen (in mehr als 80% der Glomerula und in einer Ausdehnung von mehr als der halben Zirkumferenz der Glomerulumkapsel) werden nach THOENES W. (1973, 1974, 1979, 1982) als intra- und extrakapillär-proliferative GN (iekGN) bezeichnet.

Der in der Mehrzahl der Fälle sehr rasche, prognostisch ungünstige Krankheitsverlauf rechtfertigt die Bezeichnung "rapid-progressive GN (RPGN)" (BOHLE et al. 1984; THOENES W. 1973, 1982) und wird auch synonym für diese Form von GN verwendet (BERGER et al. 1971; FISCHBACH 1973; KINCAID-SMITH 1975; McLEISH et al. 1978; THOENES G.H. 1973; WILSON und DIXON 1974).

In Anlehnung an BOHLE et al. (1984) wird die sekundäre Form von RPGN im Rahmen des Goodpasture-Syndroms hier gemeinsam mit der idiopathischen RPGN besprochen, da die glomerulären Veränderungen bei diesen beiden Formen morphologisch nicht zu unterscheiden sind (DISCHE und PARSONS 1977; GÄRTNER et al. 1978; OLSEN 1974).

3.4.2. Licht- und immunfluoreszenzmikroskopische Befunde

3.4.2.1. Lichtmikroskopische Veränderungen

Die histologischen Befunde in 10, mit der PAP-Methode darstellbaren Fällen, zeigten überwiegend schwer veränderte Glomerula mit unterschiedlich alten Veränderungen.

Eine breite epitheliale Zellproliferation mit Ausbildung von Halbmonden wurde in 9 von 10 Fällen beobachtet und entsprach dem Bild einer diffusen, extrakapillär-proliferativen GN mit teils zellreichen, teils völlig fibrösen Halbmondbildungen. In einem Fall lagen histologisch Veränderungen im Sinne einer mäßiggradigen, mesangiopro-

liferativen GN mit Vermehrung der Mesangiumzellen und -matrix sowie einer gelegentlichen geringen Proliferation von Epithel- und Endothelzellen vor. Da der immunhistologische Befund keinen Zweifel an dem Vorliegen eines Goodpasture Syndroms ließ, wurde dieser Fall an dieser Stelle berücksichtigt.

Neben den ausgeprägten extrakapillären Proliferaten fand sich in 9 Fällen eine meist geringgradige Proliferation von Mesangiumzellen und weniger häufig auch eine Zunahme der Mesangiummatrix (3x) sowie eine geringgradige Schwellung und Proliferation von Endothelzellen (3x).

In Übereinstimmung mit der Nomenklatur von THOENES W. (1973), wurde aufgrund dieser Veränderungen in 9 Fällen die histologische Diagnose einer intra- und extrakapillär-proliferativen GN gestellt. Ausgedehnte, frische Schlingennekrosen konnten als weitere Veränderung in 4 Fällen beobachtet werden, die in einem zweiten Fall von Goodpasture-Syndrom soweit im Vordergrund standen, daß das histologische Bild einer nekrotisierenden GN entsprach. Die histologischen Befunde einer intra- und extrakapillär-proliferativen GN standen in allen 9 Fällen in Übereinstimmung mit dem klinischen Bild einer rapid-progressiven GN.

3.4.2.2. Immunhistologische Befunde der IMF

Die Befunde der IMF ergaben in 3 von 10 Fällen eine negative Immunhistologie an den Glomerula. In einem Fall davon lagen ausschließlich hochgradig veränderte Glomerula vor, und in einem weiteren Fall wurden herdförmige C3-positive Depots an den tubulären Basalmembranen beschrieben, die mit der Verdachtsdiagnose eines tubulo-interstitiellen Krankheitsprozesses vereinbart wurden.

Ein relativ geringgradiger bzw. ausgeprägter Befund vom linearen Typ zeigte sich in 2 von 10 Fällen, so daß hinsichtlich der klinischen Symptomatik ein Goodpasture-

Syndrom anzunehmen war.

Die linearen Fluoreszenzen waren in einem Fall mit IgG, M, C3 und C4 positiv. Ein zweiter Fall zeigte lineare Ablagerungen, die mit IgG, C3 und C4 positiv waren; daneben waren die tubulären Basalmembranen in beiden Fällen ebenfalls mit linearen Fluoreszenzen darstellbar. Ein positiver Befund vom mesangialen Typ wurde in 4 der 10 Fälle beschrieben; dabei handelte es sich in einem Fall um IgG- und C3-positive, dem zweiten um IgA- und C3-positive, dem dritten um IgG-, IgA- und C3/C4-positive, sowie in dem vierten Fall um isolierte C3-positive Ablagerungen in mesangialen Bereichen. In einem von 10 Fällen fand sich ein positiver Befund vom akut-proliferativen Typ mit einzel stehenden, IgG-, IgA- und C3-positiven epimembranösen Depots in Form sog. "Humps". C3-positive Depots waren daneben auch in mesangialen Bereichen und dem Bowman's Kapselepitheel anzutreffen. Eine Zusammenfassung der beschriebenen immunhistologischen Befunde der IMF zeigt Tabelle 11.

3.4.3. Ergebnisse der PAP-Methode

3.4.3.1. Anzahl der Fälle

Das bearbeitete Biopsiematerial wies 16 Fälle von intra- und extrakapillär-proliferativer GN auf. Die PAP-Befunde waren aber bei 6 dieser Fälle nicht zu beurteilen, da die Anschnitte nur Nierenmarkgewebe zeigten.

3.4.3.2. Darstellung der PAP-Befunde

Die PAP-Ergebnisse ergaben in 2 von 10 Fällen einen negativen glomerulären Befund mit allen Immunsustanzen, wobei aber in einem Fall nur ein Glomerulum beurteilt werden konnte.

Bei dem zweiten Fall fanden sich, im Gegensatz zu einem negativen glomerulären Befund, stärkere IgG-positive tubulo-interstitielle Anfärbungen, die so stark waren,

daß sie nicht mehr einzelnen Strukturen zugeordnet werden konnten.

Ein positiver PAP-Befund mit einem breitgefächerten und heterogenen Ablagerungsmuster der einzelnen Immunsubstanzen ergab sich in 4 der 10 Fälle. In allen Fällen war eine Zuordnung von Immunglobulin- und Fibrinogenablagerungen zu den Kapillarschlingen, wie auch den Mesangien nicht mehr möglich (siehe Abb. 7 und 8). Die sehr stark alterierten Glomerula sahen diffus, mit IgG-, IgM-, Fibrinogen- und C3-positiven Ablagerungen durchtränkt aus. Mit IgG konnte ein derartiges Muster in drei und mit C3 in einem von 4 Fällen beobachtet werden. Im Vergleich zu IgM und Fibrinogen waren diese Ablagerungen eher mäßiggradig ausgeprägt. Sehr stark ausgeprägte Befunde wurden hingegen in allen 4 Fällen mit IgM (siehe Abb. 7) und in 3 Fällen mit Fibrinogen (siehe Abb. 8) erhoben. Beide Immunsubstanzen ließen dabei immer wieder ausgesprochen umschriebene Ablagerungen erkennen, die auf frischere Schlingennekrosen begrenzt waren. Neben diesen immunhistologischen Veränderungen der stark alterierten Glomerula, zeigten die nur geringgradig beeinträchtigten Nierenkörperchen einen negativen glomerulären Befund. Völlig oder nahezu vollständig verödete Glomerula waren überwiegend ebenfalls negativ, und nur in 2 Fällen sah man einige dieser Nierenkörperchen IgM-positiv dargestellt. Das Bowman's Kapselepithel enthielt in 2 von 4 Fällen starke IgM-positive Ablagerungen, die nur in einem Teil der Glomerula, wie auch nur abschnittsweise entlang der Kapsel zu sehen waren. Ebenfalls mit IgM positiv waren in einem Fall die Halbmondbildungen flächig-streifig dargestellt.

In allen 4 Fällen zeigten sich massive Ablagerungen der genannten Immunsubstanzen in tubulären Zellen und Zylindern, wie auch in nicht genauer zu bestimmenden, extraglomerulären Strukturen.

IgA war in diesen 4 Fällen glomerulär nicht, in tubulä-

ren Zellen und Zylindern jedoch ausgeprägt nachweisbar. Mit C4 stellten sich in 2 Fällen tubuläre Zylinder positiv dar.

Weitere 2 von 10 Fällen ergaben einen unterschiedlich an den einzelnen Glomerula ausgeprägten, mäßig bis starken, IgM- und Fibrinogen-positiven Befund. Diese Immuns-substanzen zeigten dabei ausschließlich Ablagerungen im Bereich des Bowman's Kapselepitheils und der Halbmondbildungen, ohne im Schlingenkonvolut bzw. an den glomerulären Basalmembranen selbst nachweisbar zu sein. Mesangiale Ablagerungen mit IgG und C3 waren in nur einem der 10 Fälle mit hinlänglicher Sicherheit abgrenzbar, die jedoch segmental akzentuiert, nur in weniger geschädigten Schlingenanteilen zu sehen waren.

Letztlich in einem von 10 Fällen ergab sich mit IgG ein lineares Ablagerungsmuster, das stark ausgeprägt war, und eine "brilliante" Anfärbung, wie sie für ein Goodpasture-Syndrom oder eine Antibasalmembran-Nephritis gefordert wird, aufzeigen konnte (siehe Abb. 9 und 10).

Insgesamt betrachtet, zeigten die PAP-Befunde in 10 Fällen von intra- und extrakapillär-proliferativer GN ein uneinheitliches immunhistologisches Bild.

Innerhalb eines Falles wie auch zwischen den einzelnen Fällen, lagen negative glomeruläre neben ausgeprägt positiven Befunden vor, die desweiteren unterschiedliche Kombinationen der nachweisbaren Immuns-substanzen aufwiesen. Die dargestellten Befunde sind in Tabelle 12 aufgeführt, bei der durch Aufhebung der Unterteilung "membranös/mesangial" der Tatsache gerecht werden soll, daß die Ablagerungen nicht mehr einzelnen glomerulären Strukturen zuzuordnen waren.

Abbildung 7 und 8 zeigen die PAP-Befunde mit IgM und Fibrinogen in stark alterierten Glomerula, bei denen, im Gegensatz zu den IMF-Befunden, die Ablagerungen nicht mehr mesangialen Bereichen zugeordnet werden konnten. Abbildung 9 und 10 zeigt den PAP-Befund in einem Fall von Goodpasture-Syndrom, bei dem lineare Ablagerungen mit IgG nachweisbar waren.

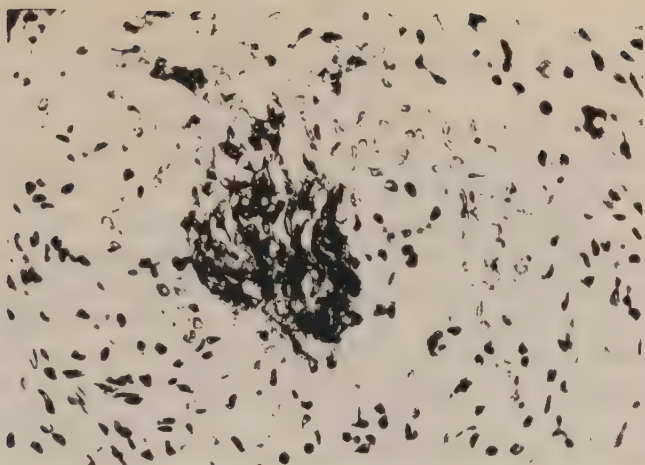


Abb.7: Intra- und extrakapillär-proliferative GN. Ausgeprägte IgM-positive Ablagerungen in noch vorhandenen Anteilen des Schlingenkonvolutes. Keine Ablagerungen in der extrakapillären Halbmondbildung. (Ölimmersion, 1000fache Vergrößerung)



Abb.8: Intra- und extrakapillär-proliferative GN. Ausgeprägte, flächige Ablagerungen von Fibrinogen in einer ausgedehnten, frischen Schlingennekrose. (Ölimmersion, 1000fache Vergrößerung)

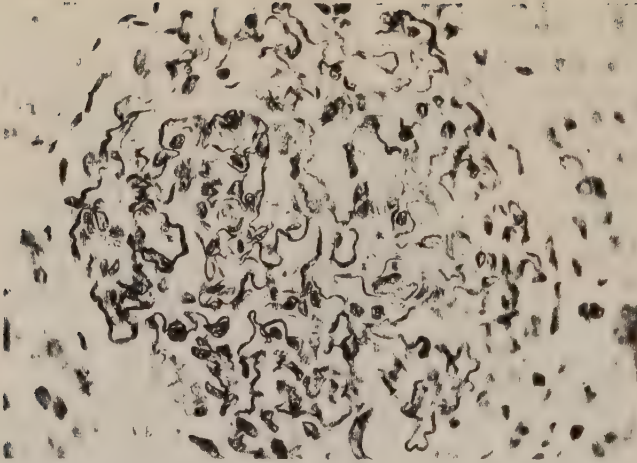


Abb.9: Goodpasture-Syndrom.
Lineares Ablagerungsmuster mit IgG entlang
der glomerulären Basalmembran.
(Ölimmersion, 1000fache Vergrößerung; ab-
weichend wurde als Substrat Aminoäthylcar-
bazol (AEC, Rotfärbung) und nicht Diamino-
benzidin (DAB, Schwarzfärbung) verwendet.

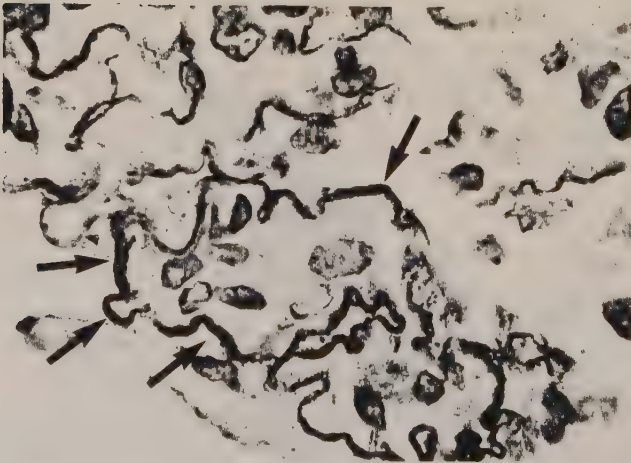


Abb.10: Goodpasture-Syndrom.
Ausschnittvergrößerung (Ölimmersion, 12000
fach) von Abb.11:
Lineares Ablagerungsmuster von IgG (→→).

3.5. Proliferativ-sklerosierende GN

3.5.1. Charakterisierung dieser GN-Form

Die proliferativ-sklerosierende GN wird von THOENES W. (1973, 1982) als eigenständige GN-Form abgegrenzt. Sie ist durch proliferative Prozesse gekennzeichnet, bei denen eine zunehmende Vernarbung eintritt, während dann der Typ der vorausgegangenen Proliferation nicht oder nicht mehr eindeutig erkennbar ist. Bei ZOLLINGER und MIHATSCH (1978) wird diese Form als "endotheliomesangiale GN in einem proliferativ-sklerosierenden Stadium" bezeichnet.

Unter klinischen Gesichtspunkten gesehen, zählt diese Form von GN zu den chronischen GN mit unterschiedlich ausgeprägtem Grad der Niereninsuffizienz (KINCAID-SMITH 1975).

Ätiologisch und morphologisch ist meist eine genaue Zuordnung nicht mehr möglich, und man diskutiert, ob immunmorphologische Befunde nicht vielmehr Folge als Ursache des schweren Nierenschadens sind (VELOSA et al. 1976).

3.5.2. Licht- und immunfluoreszenzmikroskopische Befunde

3.5.2.1. Lichtmikroskopische Veränderungen

In dem hier vorliegenden Biopsiematerial wurde in 5 Fällen die histologische Diagnose einer proliferativ-sklerosierenden GN vorgefunden.

Die lichtmikroskopischen Veränderungen ergaben dabei in 3 Fällen mittelschwere, sowie in 2 Fällen schwere Befunde bei einer proliferativ-sklerosierenden GN, wobei in allen Fällen nur wenige Glomerula erhalten und nicht vollständig verödet bzw. hyalin umgewandelt waren. Bei den wenigen, noch nicht so schwer veränderten Glomerula, konnte in allen Biopsien ein verbreitertes Mesan-

gium mit unterschiedlichem Grad an mesangialer Zell- sowie Matrixvermehrung festgestellt werden. Die glomerulären Basalmembranen ließen, soweit beurteilbar, keine Verbreiterung oder Aufsplitterung erkennen; die Tubuli waren meist herdförmig atrophiert.

3.5.2.2. Immunhistologische Befunde der IMF

Ein immunhistologischer Befund stand nur von einem Fall zur Verfügung. Er ergab einen glomerulären, IgM-positiven Befund, bei dem eine genauere Angabe der Lokalisation dieses Immunglobulins nicht möglich war. Die Komplementfaktoren C3 und C4, wie auch die anderen Immunglobuline ließen sich in den Glomerula nicht nachweisen.

3.5.3. Ergebnisse der PAP-Methode

3.5.3.1. Anzahl der Fälle

Das begrenzte Biopsiematerial von 5 Fällen konnte nur in einem Fall mit der IMF verglichen werden, bei den übrigen 4 Fällen stand ein entsprechender IMF-Befund nicht zur Verfügung. Diese 4 nur lichtmikroskopisch untersuchten Fälle wurden mit der PAP-Methode bearbeitet und ließen in 3 davon einen positiven Nachweis von Immunglobulinen erkennen, während in einem Fall mit allen Immunsustanzen ein negatives Färbeergebnis vorlag. Insgesamt zeigten damit 4 von 5 Biopsien eine positive Immunhistologie.

3.5.3.2. Darstellung der PAP-Befunde

Die Begutachtung der PAP-Befunde zeigte folgende immunhistologische Ergebnisse der einzelnen Immunglobuline und Komplementfaktoren:

IgG-positive Depots ließen sich in mesangialen Bereichen nur in Spuren nachweisen (3x), zeigten jedoch auffällige Niederschläge mittelstarken Ausmaßes sowohl im GBM-Bereich, als auch in den kleinen Gefäßen (3x).

Verödete Glomerula waren mit IgG negativ.

IgA war praktisch negativ und zeigte nur bei einem Schnitt geringe mesangiale Ablagerungen sowie an zwei Stellen eine Mitbeteiligung der GBM. Verödete Glomerula waren ebenfalls negativ.

IgM zeigte konstant geringfügige positive Depots in mesangialen, sowie in membranösen Bereichen. An einigen verödeten Glomerula ließ sich eine IgM-positive, mehr flächenhafte Anfärbung nachweisen.

Fibrinogen ergab das stärkste Resultat mit mäßiggradigen, grobkörnigen Ablagerungen mesangial (3x), sowie auch in stärker alterierten GBM-Bereichen (3x). Nur geringgradige Depots ließen sich in verödeten Glomerula nachweisen (1x).

C3 zeigte, ähnlich wie Fibrinogen, Depots mittlerer Intensität in mesangialen und GBM-Bereichen (4x) und ist in einem Fall auch in kleineren Gefäßen nachweisbar gewesen (siehe Abb. 11 und 12).

C4 war in allen untersuchten Schnitten negativ.

Es konnte somit in 4 Fällen von proliferativ-sklerosierender GN ein positiver immunhistologischer Befund vom mesangialen Typ mit IgM, Fibrinogen und C3 erhoben werden, der jedoch auch Depots an der GBM aufwies, die aber nicht genauer lokalisierbar waren. Die stark veränderten und verödeten Glomerula zeigten einen überwiegend negativen PAP-Befund.

Eine Zusammenfassung der beschriebenen Veränderungen verdeutlicht Tabelle 13 für die PAP-Befunde; auf eine tabellarische Darstellung des einen IMF Befundes wurde verzichtet.

Abbildung 11 und 12 zeigt den PAP-Befund an einem weniger stark alterierten Glomerulum mit C3-positiven Ablagerungen in den Mesangien.

DEPOT LOKALISATION												
	MEMBRANÖS	MESANGIAL	BOWMAN'S KAPSEL	HALBMONDE	VÖLLIGE VERÖDUNG	SEGMENTALE VERÖDUNG	T B M DEPOTS	TUBULUS - ZELLEN DEPOTS	TUBULARE ZYLINDER	ARTERIOLEN -AA-DEPOTS	VERTEILUNG	FÄLLE POS. / NEG.
IGG	+++ ³	++ ³	-	-	-	-	-	-	-	+++ ³	-	2/3
IGA	+++ ²	++ ¹	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3/2
IGM	++ ⁴	++ ⁴	-	-	++ ¹	-	-	-	-	-	-	1/4
Fibr	+++ ³	+++ ³	-	-	++ ¹	-	-	-	-	-	-	3/3
C 3	+++ ⁴	+++ ⁴	-	-	-	-	-	-	-	+++ ¹	-	1/4
C 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/0

Tab.13: Immunhistologische Befunde der PAP-Methode in 5 Fällen von proliferativ-sklerosierender GN.

(++ⁿ: Anzahl der Fälle)



Abb.11: Proliferativ-sklerosierende GN.
Gering- bis mäßiggradige Ablagerungen von
C3 in den Mesangien eines Glomerulum, das
geringfügigere glomeruläre Veränderungen
zeigt. C3-positives Polgefäß.
(Ölimmersion, 1000fache Vergrößerung)



Abb.12: Proliferativ-sklerosierende GN.
Ausschnittvergrößerung (Ölimmersion, 12000
fach) von Abb.11:
Deutlich abgrenzbare, sehr große C3-positive
Depots in mesangialen Bereichen (→→).

3.6. Membranoproliferative GN

3.6.1. Charakterisierung dieser GN-Form

Die membranoproliferative GN (MPGN) ist durch eine Proliferation ortsständiger, vorwiegend mesangialer Zellen und durch eine meist diffuse und globale Verdickung der glomerulären Kapillarwand charakterisiert (BOHLE et al. 1984; BURKHOLDER 1973; HABIB 1973; HABIB et al. 1973; KINCAID-SMITH 1975; MEADOW 1978; THOENES G.H. 1973; THOENES W. 1974, 1979, 1982). Der Kapillarwandverdickung liegen unterschiedliche Prozesse zugrunde, die zu einer Unterteilung in Typ I und Typ II einer MPGN berechtigen (BOHLE et al. 1976, 1984; HABIB et al. 1973; HABIB und LEVY 1983; KINCAID-SMITH 1975). Beim Typ I kommt die Kapillarwandverdickung durch eine Ablagerung subendothelialer Depots sowie durch Einwanderung von Mesangiumzellen in den subendothelialen Raum (mesangiale Interposition) zustande (BOHLE et al. 1984; HABIB und LEVY 1983). Beim Typ II wird die Kapillarwandverdickung durch intramembranöse elektronendichte Ablagerungen hervorgerufen (Bohle et al. 1984; ZOLLINGER und MIHATSCH 1978). Ein Typ III mit Desintegration der Basalmembran wird von THOENES W. (1982, 1979) als weitere Untergruppe der membranoproliferativen GN abgegrenzt und soll hier unberücksichtigt bleiben, da ein derartiger Typ im eigenen Biopsiematerial nicht vorgefunden wurde. Die Intensität der mesangialen Zellproliferation und Matrixzunahme gestattet, unabhängig von der Art der Basalmembranveränderungen, die Abgrenzung einer einfachen Form der MPGN von einer lobulären Variante (BOHLE et al. 1976, 1984; THOENES W. 1974, 1979; ZOLLINGER und MIHATSCH 1978).

Als ein charakteristisches Merkmal der MPGN wird die auffallende Erniedrigung des C3-Spiegels angesehen, was für eine Aktivierung des Komplementsystems über den alternativen Weg spricht (HABIB et al. 1974; McLEAN und MICHAEL 1973; WEST et al. 1973; WILLIAMS et al. 1973).

Der Mechanismus des alternativen Weges scheint vor allem bei der MPGN Typ II eine entscheidende Rolle zu spielen und wird durch den Nachweis des fast immer bei dieser Form vorliegenden C3-Nephritisfaktor (C3NeF) gestützt (BOHLE et al. 1984; BERTHOUX et al. 1974; CAMERON et al. 1974; HABIB und LEVY 1983; HABIB 1974; THOENES W.1982; West et al. 1973).

Die membranoproliferative GN vom Typ I ist hingegen in konstanter mit einer Hypokomplementämie vergesellschaftet. Da bei diesen Typ I zirkulierende Immunkomplexe nachgewiesen werden konnten (OOI et al. 1977), wird auch eine Komplementaktivierung über den klassischen Weg durch Immunkomplexe diskutiert (BOHLE et al. 1984; DAVIS und CAVALLO 1976; SWAINSON et al. 1983; VERROUST et al. 1974).

3.6.2. Licht- und immunfluoreszenzmikroskopische Befunde

3.6.2.1. Lichtmikroskopische Veränderungen

Eine membranoproliferative GN wurde in dem vorliegenden Biopsiegut in 13 Fällen diagnostiziert und konnte in 8 Fällen davon mit der PAP-Methode immunhistologisch dargestellt werden. Die histologischen Befunde zeigten in 3 von 8 Fällen eine membranoproliferative GN vom Typ I, die durch eine deutliche Akzentuierung der läppchenartigen Struktur als lobuläre Variante einer MPGN abgegrenzt wurde. Die deutliche Betonung der Läppchenstruktur war auf eine Verbreiterung und kolbenförmige Auftreibung der Mesangien, in Folge einer Vermehrung der mesangialen Matrix und kräftigen Proliferation von Mesangiumzellen zurückzuführen. Durch diese Veränderungen erschienen die Glomerula vergrößert und zellvermehrt. Die glomerulären Basalmembranen waren in 2 dieser Fälle nicht eindeutig verdickt und zeigten nur an einigen Stellen eine Doppelkonturierung als Folge einer mesan-

gialen Matrixinterposition. In einem Fall konnten typische Doppelkonturierungen der GBM in nahezu allen Glomerula beobachtet werden, welche durch neugebildetes, basalmembranartiges Material bedingt waren, das sich von den Mesangien auf die Kapillarschlingen vorgeschoben hatte. Alle Fälle ließen immer wieder vollständig und zellarm verödete Glomerula erkennen.

Weitere 3 der 8 Fälle zeigten histologische Veränderungen, die als ein fortgeschrittenes Stadium einer chronischen GN imponierten. Die Veränderungen ließen dabei in einem Fall neben völlig verödeten Glomerula nur zwei Nierenkörperchen erkennen, die noch erhalten waren und eine deutliche Mesangiumzell- und Matrixvermehrung, sowie Doppelkonturen durch neugebildete Basalmembranen an der Innenseite der Kapillarlichtungen aufwiesen. Daneben imponierte ein plumpes und grob lobuliertes Muster der Schlingenläppchen, so daß dieser Befund an zwei noch erhaltenen Glomerula als eine MPGN, Typ I mit lobulärer Variante eingestuft wurde. Ebenfalls eine einfache Form einer MPGN vom Typ I lag in 2 weiteren Fällen vor, die jedoch wesentlich geringere Mesangiumzellproliferationen erkennen ließen. Eine membranoproliferative GN vom Typ II wurde in 2 von 8 Fällen angetroffen. Die Lamina densa der glomerulären Basalmembranen war in einem Fall durch die Einlagerung eines sehr elektronendichten Materials diskontinuierlich verdickt und bandförmig aufgetrieben und ließ außerdem elektronendichte, subepitheliale "Humps" an der Außenseite der GBM erkennen. Die Befunde der Elektronenmikroskopie ließen in diesem Fall die sichere Diagnose einer membranoproliferativen GN vom Typ II mit dichten intramembranösen Depots (THOENES W. 1982), auch sog. "Dense deposit disease", zu. Der zweite Fall wies in einem angefertigten Semidünnschnitt eine deutliche Verbreiterung der glomerulären Basalmembranen auf, die durch bandförmige, homogene Depots an der Innenseite der Basalmembranen bedingt war. Wegen dieser eigenartigen

subendothelialen, bandförmigen Ablagerungen, wurde der Verdacht auf eine sog. "Dense deposit disease" geäußert, ohne daß jedoch eine abschließende Diagnose möglich war. Die membranoproliferativen GN in 8 Fällen konnten zusammengefaßt, in 4 Fällen als Typ I mit lobulärer Variante, in 2 Fällen als Typ I der einfachen Form und in 2 Fällen als Typ II oder sog. "Dense deposit disease" von einander abgegrenzt werden.

3.6.2.2. Immunhistologische Befunde der IMF

Ein immunhistologischer Befund stand nur in 5 von 8 Fällen zur Verfügung, da in 2 Fällen der Biopsiezylinder für die IMF-Untersuchung keine Glomerula aufwies und in einem Fall eine derartige Untersuchung nicht vorgenommen wurde.

Positive Befunde vom membranoproliferativen Typ wurden in 2 von 5 Fällen beschrieben und ließen dabei in einem Fall IgA-, IgM- sowie C3-positive, girlandenartige Umgrenzungen der Kapillarschlingen und geringgradige mesangiale Anfärbungen erkennen. Singuläre, IgA- und IgM-positive "Humps" waren eine weitere, seltene Beobachtung. Eine Konturierung der Basalmembranen mit sehr geringen IgG- und IgM-positiven Depots, sowie stärkeren Fluoreszenzen mit C3 und C4, zeigte der zweite Fall.

In einem der 5 Fälle lag die allgemeine Diagnose einer Immunkomplex-GN vor, die durch ein mesangial-kapilläres Muster mit IgG, IgM und C4 gekennzeichnet war, aber eine bessere Einteilung nicht zuließ.

Ein geringgradig positiver Befund mit C3 und C4 bzw. mit C3 alleine, lag in 2 weiteren Fällen vor, die beide nicht mit einem für eine MPGN kennzeichnenden immunhistologischen Befund vereinbart wurden.

Zusammenfassend betrachtet, ließ sich mit der IMF in 2 von 5 Fällen ein membranoproliferatives Fluoreszenzmuster nachweisen, und in 3 von 5 Fällen konnten die Befunde nicht im Sinne einer membranoproliferativen GN gedeutet werden.

Über die Beteiligung der einzelnen Immunglobuline und Komplementfaktoren in den dargestellten 5 Fällen mit positiven IMF-Befunden, gibt Tabelle 14 Auskunft.

3.6.3. Ergebnisse der PAP-Methode

3.6.3.1. Anzahl der Fälle

Wie schon bei der Darstellung der lichtmikroskopischen und IMF-Befunde kurz erwähnt, lagen insgesamt 13 Fälle von membranoproliferativer GN in diesem Biopsiegut vor, die allerdings in 5 Fällen Glomerula vermissen ließen. Von den verbleibenden 8 Fälle wiederum, konnten nur 5 Fälle mit den entsprechenden IMF-Befunden verglichen werden, da sich in den restlichen drei Fällen keine Glomerula fanden (2x), respektive eine IMF-Untersuchung nicht vorgekommen wurde (1x).

3.6.3.2. Darstellung der PAP-Befunde bei vorliegenden IMF-Befunden

Die PAP-Befunde ließen in 5 Fällen, die einem Vergleich mit entsprechenden IMF-Befunden zugänglich waren, hinsichtlich der Anwesenheit und Lokalisation der einzelnen Immunglobuline und Komplementfaktoren folgende Ergebnisse erkennen:

IgG war in 3 von 5 Fällen positiv und zeigte dabei in 2 Fällen geringgradige, feinst granuläre Depots an der Innenseite der glomerulären Basalmembranen. Diese subendothelialen Ablagerungen, die z.T. auch einen mehr linearen Aspekt boten, waren nur in peripheren Kapillarschlingen nachweisbar.

In einem weiteren Fall lagen äußerst starke IgG-positive Depots in subendothelialer Position an den peripheren Kapillarschlingen vor, die gröbere Granula erkennen ließen, meist aber konfluierend die Schlingen nachzeichneten. Zusätzlich waren geringgradige Depots in mesangialen Bereichen zu sehen. Extraglomerulär

fielen fein-granuläre Depots in Tubuluszellen (3x) und tubulären Zylindern (1x) auf.

IgA war in glomerulären Bereichen praktisch negativ, nur in einem Fall lag ein sehr geringer, subendothelialer Befund vor. Die tubulären Zellen und Zylinder ließen in allen Fällen eine z.T. erhebliche Speicherung IgA-positiven Materials erkennen.

IgM war in 4 von 5 Fällen das am häufigsten zu beobachtende Immunglobulin und fand sich in geringgradigem (2x), wie auch mäßiggradigem (2x) Umfang subendothelial an den peripheren Kapillarschlingen abgelagert. Dabei fiel eine mehr segmental akzentuierte Verteilung in 3 Fällen auf. Eindeutige, sicher abgrenzbare subepitheliale Depots, in Form sog. "Humps" konnten mit keinem Immunglobulin nachgewiesen werden (siehe Abb.13).

Fibrinogen war nur in einem Fall mit mäßiggradigen Ablagerungen an den peripheren Kapillarschlingen positiv darstellbar.

C3 war in 3 Fällen ausschließlich subendothelial abgelagert und zeigte eine geringgradige (2x) bis starke (1x) Ausprägung. Es waren neben feinen Granula, auch z.T. mehr bandartige Ablagerungen vorhanden (siehe Abb. 14).

C4 war nur in einem Fall positiv, wies einen mäßiggradigen Befund auf und war subendothelial in den peripheren Kapillarschlingen lokalisiert.

Diese beschriebenen Befunde wurden in 4 von 5 Fällen mit der immunhistologischen Diagnose einer MPGN vereinbart, die in einem Fall ausgeprägt IgG- und IgM-positiv waren (die mit C3 bearbeiteten Schnitte zeigten leider nur zwei völlig verödete und negative Glomerula) und in einem weiteren Fall ein ausgeprägtes IgG- und C3/C4- positives Muster aufwiesen. Neben diesen relativ ausgeprägten Befunden, lagen in 2 weiteren Fällen eher geringgradige Ergebnisse, einmal mit IgG, M und C3, das anderemal mit IgM und C3, vor.

In einem von 5 Fällen zeigten sich sehr geringgradige

IgA-, M- und Fibrinogen-positive, subendotheliale Ablagerungen an nur zwei vorhandenen Glomerula, was als nicht hinreichend sicherer Beweis für das Vorliegen einer MPGN erachtet wurde.

3.6.3.3. Darstellung der PAP-Befunde bei fehlenden IMF-Befunden

Eine immunhistologische Darstellung mittels der PAP-Methode gelang in 3 Fällen von MPGN, die keiner immunfluoreszenzmikroskopischen Untersuchung unterworfen waren. IgG war in allen 3 Fällen in geringgradigem Umfang subendothelial in den peripheren Kapillarschlingen abgelagert und ließ z.T. nur eine Beteiligung von wenigen Schlingen erkennen. Tubuluszellen enthielten in allen Fällen feinste Granula.

IgA war, wie IgG, in geringem Umfang in allen Fällen nachweisbar und war in unterschiedlicher Position jeweils in mesangialen Bereichen (1x), in peripheren Kapillarschlingen (1x) wie auch im Bowman's Kapselepithel (1x) lokalisiert.

IgM zeigte in allen 3 Fällen einen ausgeprägten Befund an der Innenseite der GBM in den peripheren Kapillarschlingen. Die Schlingen sahen dabei wie nachgezeichnet aus, ohne daß mit Bestimmtheit einzelne Depots abzugrenzen gewesen wären. In einem Fall herrschte dabei der Eindruck vor, daß die Depots linear abgelagert waren. Das Bowman's Kapselepithel enthielt in dem gleichen Fall neben IgA-positiven, auch IgM-positive Depots.

Fibrinogen ließ in keinem Fall Ablagerungen erkennen. C3 war in 2 Fällen gering- (1x) bis mäßiggradig (1x) in den peripheren Kapillarschlingen mit sehr feinen Depots abgelagert und mit C4 konnten ähnliche, relativ stark ausgeprägte Befunde in einem Fall erhoben werden. Die vorliegenden Befunde entsprachen somit in allen Fällen dem immunhistologischen Bild einer MPGN und unterschieden sich vor allem durch die Zusammensetzung der

einzelnen Immunglobuline und Komplementfaktoren. Es stellte sich dabei ein Fall von MPGN mit IgG, M, C3/C4, ein Fall mit IgG, A, M, C3 und ein Fall nur mit den Immunglobulinen IgG, A und M dar.

Die beschriebenen PAP-Ergebnisse sind zusammengefaßt in Tabelle 15 für alle 8 positiven PAP-Befunde dargestellt. Abbildung 13 und 14 zeigt den PAP-Befund eines Falles von membranproliferativer GN Typ I mit IgM- (Abb. 13) und C3- (Abb. 14) positiven subendothelialen Ablagerungen.

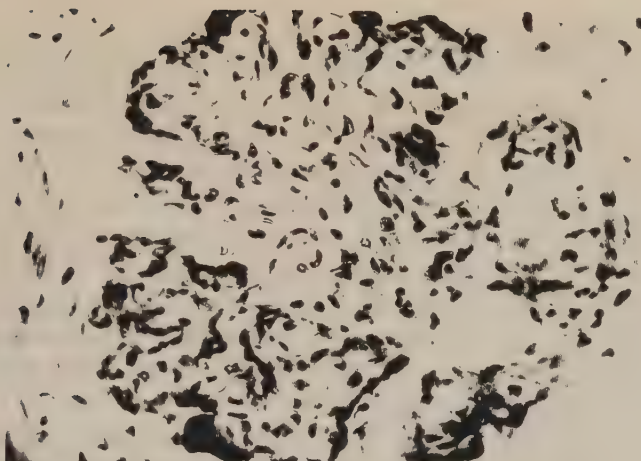


Abb.13: Membranoproliferative GN, Typ I.
Lobuläre Variante mit subendothelialen
Ablagerungen von IgM in der Peripherie
der glomerulären Kapillaren.
(Ölimmersion, 1000fache Vergrößerung).

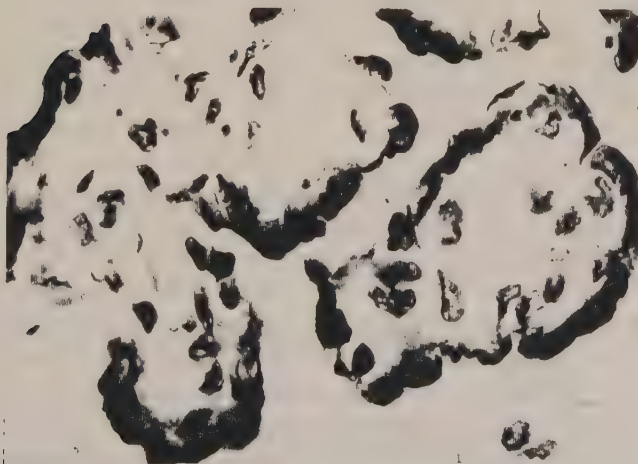


Abb.14: Membranoproliferative GN, Typ I.
Gleicher Fall wie in Abb.13, mit ausge-
prägten subendothelialen Ablagerungen von
C3 in den peripheren Kapillarschlingen.
(Ölimmersion, 12000fache Vergrößerung)

3.7. (Peri-) Membranöse GN

3.7.1. Charakterisierung dieser GN-Form

Die glomerulären Veränderungen der perimembranösen GN (PGN) sind durch Alterationen der glomerulären Kapillarschlingen charakterisiert, die als homogene Verbreiterung der Kapillarschlingen imponieren (BOHLE et al. 1984; THOENES W. 1974, 1982; TÖRNROTH 1983). Dieser glomerulären Kapillarschlingenverbreiterung liegen Veränderungen der Basalmembranstruktur zugrunde, die durch subepitheliale Ablagerungen von Immunkomplexen bedingt sind (BOHLE et al. 1984; HABIB 1973; THOENES W. 1982).

Die hier verfolgte Einteilung der Glomerulonephritiden nach THOENES W. (1982) lehnt sich dabei, wie auch andere Autoren (BOHLE et al. 1984; FISCHBACH 1973; GÄRTNER et al. 1977) an die von EHRENREICH und CHURG (1968) getroffene Unterteilung in vier Stadien der perimembranösen GN an.

Das proliferative Element tritt bei dieser GN-Form zurück und eine mesangiale Zell- und Matrixvermehrung kann allenfalls mäßig ausgeprägt beobachtet werden (CHURG und DUFFY 1973; HABIB 1973; HEPTINSTALL 1973; KINCAID-SMITH 1975; THOENES W. 1982; TÖRNROTH 1983). Unter Berücksichtigung ätiologischer Faktoren wurden bei den hier vorliegenden Fällen von perimembranöser GN nur die idiopathischen Formen berücksichtigt und symptomatische Formen, z.B. beim Systemischen Lupus Erythematoses, ausgeklammert (entsprechend BOHLE et al. 1984; CHURG und DUFFY 1973).

3.7.2. Licht- und immunfluoreszenzmikroskopische Befunde

3.7.2.1. Lichtmikroskopische Veränderungen

Eine perimembranöse GN fand sich in dem hier bearbeiteten Biopsiematerial in 34 Fällen. Aus diagnostischen

Gründen war in der Überwiegenden Anzahl von Fällen das Biopsiematerial zur Herstellung von Dünnschnitten in Methacrylat umgebettet worden, so daß paraffineingebettetes Material mit einer genügenden Anzahl von Glomerula letztlich nur in 10 Fällen zur Verfügung stand. In 3 von 10 Fällen lag dabei ein Stadium I nach EHRENREICH und CHURG vor, mit zarten und nur gelegentlich verdickten glomerulären Basalmembranen. Versilberte Semidünnschnitte zeigten eine Besetzung der Basalmembranaußenseite mit zahlreichen feinen Depots und in einem Fall kam eine sehr diskrete Mesangiumzellproliferation zur Darstellung. Ein Stadium II mit voll ausgebildeten, typischen Kapillarwandveränderungen und mit spikeartigen Protuberanzen an der Außenseite der Basalmembranen, fand sich in 4 von 10 Fällen. Daneben zeigten diese 4 Fälle mäßiggradig verbreiterte Mesangien, in erster Linie durch eine Matrixzunahme und eine geringgradige Mesangiumzellproliferation.

Veränderungen der glomerulären Basalmembran im Sinne eines Stadiums III lagen in 2 Fällen vor, und in einem Fall stellten sich die Basalmembranen kettengliederartig transformiert dar, was einem Stadium IV entsprach. Auch in diesen Fällen waren die Mesangien leicht verbreitert und ließen eine meist herdförmige Vermehrung der Mesangiumzellen erkennen.

3.7.2.2. Immunhistologische Befunde der IMF

Ein IMF-Befund lag in 8 von 10 Fällen vor und zeigte in all diesen Fällen ein positives Fluoreszenzmuster vom perimembranösen Typ.

Regelmäßig waren IgG-positive Ablagerungen an der Außenseite der glomerulären Basalmembranen beschrieben, die aus stark bis mäßig ausgeprägten, dicht bei dicht liegenden granulären Depots bestanden. In 2 Fällen lagen sehr große Depots vor, die z.T. fast so groß wie "Humps" waren und mit vielen kleinen Depots vermischt,

ein unregelmäßig granuliertes Fluoreszenzmuster ergaben. IgG lag dabei in 3 Fällen zusammen mit C3-positiven Fluoreszenzen vor, die jedoch geringgradig ausgeprägt, ein flaves Abbild der IgG-Ablagerungen zeigten. Mit C4 kombiniert war IgG in 2 Fällen zu beobachten und mit C3/C4 in weiteren 2 Fällen.

Ein perimembranöser Immunglobulinbefund mit IgG und IgA fand sich in einem Fall, der entsprechende Komplementablagerungen vermissen ließ.

IgA-positive Fluoreszenzen waren in 2 Fällen nachweisbar, einmal, wie beschrieben, an der Außenseite der Basalmembranen, das anderemal in mesangialen Bereichen.

IgM- und Fibrinogen-positive Fluoreszenzen kamen in keinem Fall zur Darstellung.

Die Komplementfaktoren C3 und C4 waren in 7 von 8 Fällen positiv dargestellt und lagen immer mit IgG kombiniert vor. Die IMF-Befunde ergaben somit in fast allen Fällen (7x) ein positives Fluoreszenzmuster vom perimembranösen Typ mit IgG und den Komplementfaktoren C3 und/oder C4.

Eine zusammenfassende Darstellung dieser IMF-Befunde verdeutlicht Tabelle 16.

3.7.3. Ergebnisse der PAP-Methode

3.7.3.1. Anzahl der Fälle

Das hier vorliegende Biopsiegut enthielt 34 Fälle von membranöser GN und konnte in 24 Fällen nicht mit der PAP-Methode bearbeitet werden, da das Material soweit aufgebraucht war, daß sich keine Glomerula mehr auffinden ließen. Es verblieben somit 10 Fälle, die mit der PAP-Methode dargestellt werden konnten.

In 8 dieser 10 Fälle lagen entsprechende Befunde der IMF vor, und 2 Fälle sind immunfluoreszenzmikroskopisch nicht untersucht worden.

3.7.3.2. Darstellung der PAP-Befunde bei vorliegenden IMF-Befunden

Die PAP-Ergebnisse zeigten in den 8 Fällen, in denen ein Vergleich mit den IMF-Befunden möglich war, in allen Fällen Ablagerungen an der Außenseite der glomerulären Basalmembranen. Hinsichtlich der Darstellbarkeit der einzelnen Immunglobuline und Komplementfaktoren C3/ C4 zeigten sich dabei folgende Befunde:

IgG war in allen Fällen das vorherrschende Immunglobulin und mit stark ausgeprägten, sehr intensiven Ablagerungen an der Außenseite der glomerulären Basalmembranen, perimembranös, dargestellt. Nur in 2 Fällen lag ein eher mäßiggradiger Befund mit IgG vor, und die Ablagerungen stellten sich dabei in Form sehr feiner, perimembranös liegender Granula dar. Die stark ausgeprägten Befunde mit IgG ließen dagegen abgrenzbare Granula mittlerer Größe, vermischt mit z.T. sehr groben Depots erkennen. Die Verteilung war in allen Fällen diffus und global; extraglomerulär ließen sich in 5 Fällen feine Depots in den Tubuluszellen nachweisen. IgG lag in allen Fällen zusammen mit den Komplementfaktoren C3/C4 vor, deren Ablagerungen in der Regel geringgradig ausgeprägt waren. In 5 Fällen war IgG dabei zusammen mit C3 und C4, in 2 Fällen mit C4 und in einem Fall mit C3 nachweisbar. IgA ließ sich nur in einem Fall mit feinen Granula entlang der Außenseite der glomerulären Kapillarwand darstellen, und lag dabei kombiniert mit IgG, Fibrinogen und C4 vor.

IgM zeigte in 3 Fällen positive Anfärbungen, die fokal und segmental verteilt waren und in einem Fall sehr große, fast schon als "Humps" zu bezeichnende Depots an einigen Stellen der Membranaußenseite bildeten.

Fibrinogen-positive Ablagerungen waren in 4 Fällen darstellbar, wie IgM fokal und segmental verteilt und meistens nur in Form feiner Granula an einigen Stellen in der Schlingenperipherie zu sehen.

C3 war in 6 von 8 Fällen diffus und global verteilt darstellbar und zeigte dabei eine meist geringgradige Ausprägung mit feinen, abgrenzbaren Depots an der Außenseite der Schlingenperipherie. Es lag in fast allen Fällen (7x) kombiniert mit C4-positiven Ablagerungen vor und nur in einem Fall war C3 ohne begleitende C4-Depots nachweisbar.

C4 war regelmäßig in 7 von 8 Fällen diffus und global verteilt und mit geringgradig ausgeprägten, fein granulären Depots perimembranös zu lokalisieren. Es lag dabei in 2 Fällen als alleiniger Komplementfaktor vor und in 5 Fällen zusammen mit C3-positiven Ablagerungen. Insgesamt betrachtet ergab sich somit in 8 Fällen von perimembranöser GN mit der PAP-Methode ein ausgeprägter Befund mit IgG entlang der glomerulären Kapillarwand mit globalen und diffusen sowie kontinuierlichen granulären Ablagerungen. Mit den Komplementfaktoren C3 und C4 war ein gleiches Ablagerungsmuster wie bei IgG vorhanden, jedoch geringgradig ausgeprägt. Die Immunglobuline IgA und IgM, wie auch Fibrinogen, ließen sich in einigen Fällen nachweisen, lagen aber immer neben IgG- und Komplementablagerungen vor und waren ausgesprochen fokal und segmental verteilt.

3.7.3.3. Darstellung der PAP-Befunde fehlenden IMF-Befunden

Mit der PAP-Methode wurden 2 Fälle von perimembranöser GN bearbeitet, die in beiden Fällen ein positives PAP-Ergebnis mit dem Ablagerungsmuster einer perimembranösen GN ergaben.

In beiden Fällen war IgG das am ausgeprägtesten und stark positiv darstellbare Immunglobulin, das sich an der Außenseite der Kapillarschlingen lokalisieren ließ. Die voneinander abgrenzbaren, granulären Depots zeigten eine diffuse und globale Verteilung (siehe Abbildung 15 und 16).

Neben IgG lagen in einem Fall sehr geringe IgM-positi-

ve Ablagerungen vor, die jedoch nur in einigen wenigen peripheren Kapillarschlingen zu sehen waren.

Die Komplementfaktoren C3 und C4 waren in beiden Fällen kombiniert an der Außenseite der Basalmembranen nachweisbar und zeigten, wie IgG, eine diffuse und globale Verteilung ihrer insgesamt geringgradigen Ablagerungen.

Es ergab sich in diesen 2 Fällen demnach ein ausgeprägter immunhistologischer Befund vom perimembranösen Typ mit IgG sowie, allerdings geringgradiger, mit C3 und C4.

Eine tabellarische Zusammenstellung der PAP-Ergebnisse in den insgesamt 10 Fällen von perimembranöser GN, zeigt Tabelle 17. In Abbildung 15 und 16 ist der IgG-positive, perimembranöse PAP-Befund eines Falles dargestellt, bei dem ein entsprechender IMF-Befund fehlte.

Tab.16: Immunhistologische Befunde der IMF in 8 Fällen von perimembranöser GN.

(++ⁿ: Anzahl der Fälle)

DEPOT-LOKALISATION											
	MEMBRANOS	MESANGIAL	BOWMAN'S KAPSEL	HALBMONDE	VÖLLIGE VERÖDUNG	SEGMENTALE VERÖDUNG	TBM DEPOTS	TUBULUS - ZELLEN DEPOTS	TUBULÄRE ZYLINDER	ARTERIOLEN - AA-DEPOTS	FÄLLE NEG./POS.
IGG	+++ ⁸	-	-	-	-	-	-	+++ ¹	-	-	0/8
IGA	+++	++ ¹	-	-	-	-	-	-	-	-	0/2
IGM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/0
Fibr	-	-	++ ¹	-	-	-	-	-	-	-	7/1
C3	++ ⁵	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3/5
C4	++ ⁴	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4/4

Tab.17: Immunhistologische Befunde der PAP-Methode in 10^a Fällen von perimembranöser GN.

a: In 2 der 10 Fälle fehlte ein entsprechender IMF-Befund.

(++ⁿ: Anzahl der Fälle)

DEPOT-LOKALISATION											
	MEMBRANOS	MESANGIAL	BOWMAN'S KAPSEL	HALBMONDE	VÖLLIGE VERÖDUNG	SEGMENTALE VERÖDUNG	TBM DEPOTS	TUBULUS - ZELLEN DEPOTS	TUBULÄRE ZYLINDER	ARTERIOLEN - AA-DEPOTS	VERTEILUNG FÄLLE NEG. / POS.
IGG	+++ ⁸	-	-	-	-	-	-	+++ ⁶	++ ¹	-	D/G 0/10
IGA	++ ¹	-	-	-	-	-	-	++ ¹	++ ¹	-	D/G 0/1
IGM	++ ⁴	-	-	-	-	-	-	-	++ ²	-	F/S 0/4
Fibr	++ ⁴	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F/S 0/4
C3	++ ⁸	-	-	-	-	-	-	++ ²	++ ¹	-	D/G 2/8
C4	++ ⁵	-	-	-	-	-	-	++ ²	++ ¹	-	D/G 1/9

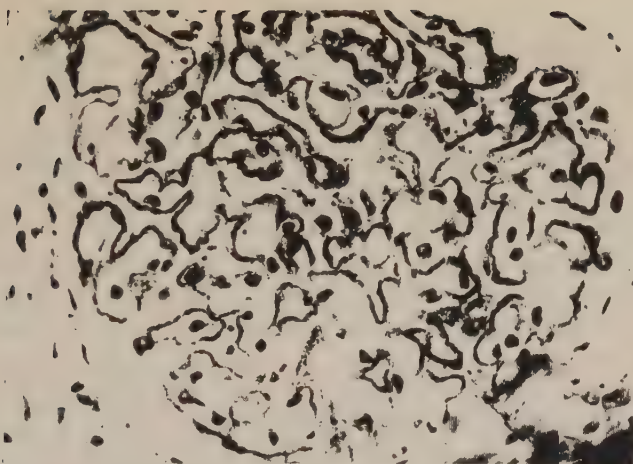


Abb.15: Perimembranöse GN.
Kontinuierliche granuläre, perlschnur-
artige Ablagerungen von IgG an der Außen-
seite der glomerulären Kapillarrowand.
(Ölimmersion, 1000fache Vergrößerung)

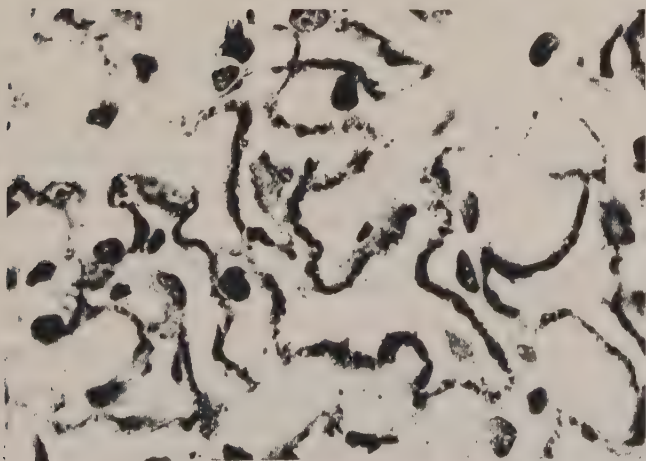


Abb.16: Perimembranöse GN.
Ausschnittvergrößerung von Abb.15 (Öl-
mersion, 12000fach): Feine, dicht bei-
dicht liegende IgG-positive Depots, die
deutlich an der Außenseite der Kapillar-
wand zu lokalisieren sind.

3.8. Fokal-segmental (betonte) GN

3.8.1. Charakterisierung dieser GN-Form

Die fokal-segmental (betonten) GN werden nach THOENES W. (1973, 1982) in die zwei hauptsächlichen Formen der fokal-segmental proliferativen und sklerosierenden GN unterteilt.

Die fokal-segmental proliferativen GN stellen einmal eine Manifestationsform der IgA-IgG-Nephritis dar (THOENES W.

1979), und zum anderen können die Glomerulonephritiden im Rahmen des Schönlein-Henoch-Syndroms, Systemischen Lupus Erythematoses und Goodpasture-Syndroms das histologische Bild einer fokal-segmental proliferativen GN bieten (THOENES W. 1982).

Die vorliegende Darstellung der fokal-segmental (betonten) GN berücksichtigt dabei nur die sklerosierende Form dieser GN, die sog. "Fokale Sklerose" (KINCAID-SMITH 1975), während die proliferativen Formen unter den oben genannten Glomerulonephritiden abgehandelt wurden. Diese, gewöhnlich mit einem nephrotischen Syndrom einhergehende Nierenerkrankung, ist durch eine diffuse, minimale Proliferation von Mesangiumzellen gekennzeichnet (BOHLE et al. 1984). Desweiteren treten, zunächst in Glomerula in juxtamedullärer Position, fokale und segmentale, alle Strukturen des Kapillarkonvolutes betreffende Sklerosierungen auf (BOHLE et al. 1984; THOENES W. 1982).

3.8.2. Licht- und immunfluoreszenzmikroskopische Befunde

3.8.2.1. Lichtmikroskopische Veränderungen

Eine fokal-segmental sklerosierende GN lag im eigenen Biopsiegut in insgesamt 21 Fällen vor und konnte mit der PAP-Methode in 14 Fällen beurteilt werden.

Die histologischen Befunde zeigten in 3 von 14 Fällen Glomerula, von denen die meisten unauffällig waren und

nur an einigen Nierenkörperchen segmentale, periphere Schlingenaufreibungen, geringe Kapselverwachsungen und Ablagerungen hyalinen Materials erkennen ließen. Diese Veränderungen waren gut vereinbar mit einer geringgradig ausgeprägten, fokal-segmental sklerosierenden GN. In 2 von 14 Fällen lag ein mittelschwerer Befund mit Sklerosierungen von Kapillarschlingen, subendothelialen, homogenen und PAS-positiven Niederschlägen, sowie einigen vernarbten Glomerula vor. Ein eindeutiger und typischer Befund einer fokal-segmental sklerosierenden GN wurde in 4 von 14 Fällen erhoben. In den verödeten Schlingenteilen kamen dabei große, eosinrote tropfige Ablagerungen, Schaumzellen und eine deutlich segmental ausgeprägte Hyalinisierung und Sklerosierung von einigen Glomerula zur Beobachtung. Ein fortgeschrittenes Stadium mit Überwiegend völlig verödeten Glomerula, lag in 4 von 14 Fällen vor. An einigen wenigen, geringer alterierten Glomerula, ließ sich dabei noch das Muster einer fokal-segmental sklerosierenden GN erkennen.

3.8.2.2. Immunhistologische Befunde der IMF

Immunhistologische Befunde der IMF standen in 11 von 14 Fällen zur Verfügung.

Positive Befunde vom fokal-segmentalen Typ wurden in 6 von 11 Fällen vorgefunden. In all diesen 6 Fällen waren die Ablagerungen IgM- und C3-positiv, meist mäßiggradig bis stark ausgeprägt und segmental mit flächenhaften typischen Anfärbungen dargestellt.

Neben diesen Immunsustanzen IgM und C3 lagen auch IgG (2x), IgA (1x) und C4 (3x), teils in den Kapillarschlingen, teils auch in den Mesangien vor.

Ein positiver Befund mit IgG, M und C4 mit feinsten subendothelialen Depots sowie linearen C4-Fluoreszenzen, lag in einem von 11 Fällen vor. Endomembranöse Depots mit IgG, M, C3 und C4 stellten sich in einem weiteren

Fall, ein geringer mesangialer Befund mit IgA und IgM in einem dritten Fall dar. In einem von 11 Fällen war eine immunhistologische Diagnose des mäßiggradigen, einzelnen Glomerulumstrukturen nicht zuzuordnenden, C3/C4-Befundes nicht möglich, und ein weiterer Fall zeigte einen negativen Befund.

In mehr als der Hälfte der Fälle (6x) ergab sich somit ein fokal-segmentales Muster mit IgM und C3, sowie in den restlichen Fällen (5x) wenig typische immunhistologische Befunde.

Eine Zusammenfassung der dargestellten IMF-Befunde zeigt Tabelle 18.

3.8.3. Ergebnisse der PAP-Methode

3.8.3.1. Anzahl der Fälle

Das vorliegende Biopsiegut enthielt 21 Fälle von fokal-segmentaler GN. In 7 der 21 Fälle war eine Befunderhebung mit der PAP-Methode nicht möglich, da sich nur Anschnitte von Nierenmarkgewebe finden ließen. Es verblieben somit 14 Fälle, von denen 11 Fälle mit den entsprechenden IMF-Befunden verglichen werden konnten und 3 Fälle, bei denen eine immunfluoreszenzmikroskopische Untersuchung fehlte.

3.8.3.2. Darstellung der PAP-Befunde

Die Ergebnisse der PAP-Methode wiesen in 6 von 14 Fällen äußerst geringfügige Minimalbefunde an durchschnittlich drei bis fünf vorhandenen Glomerula auf.

IgM wurde dabei in 2 Fällen isoliert in den vernarbten Schlingensegmenten und in 2 Fällen zusammen mit IgG bzw. C3 angetroffen. In einem weiteren dieser 6 Fälle zeigte sich ein isolierter C4-Befund an einer segmental veränderten Kapillarschlinge, und in einem Fall lagen lediglich geringfügige IgG-positive Ablagerungen an einigen Stellen der Mesangien und in peripheren Schlingengebieten vor.

Ein gering-bis mäßiggradig ausgeprägter Befund mit IgM lag in 2 von 14 Fällen vor, der deutliche Ablagerungen dieses Immunglobulins in segmental verödeten Kapillarschlingen aufwies.

Negative Befunde mit allen Immunsustanzen wurden in 6 von 14 Fällen erhoben. In 5 dieser Fälle kam nur noch ein Glomerulum zur Darstellung, das in unterschiedlichen Schnittstufen keinerlei Ablagerungen, aber auch keine Vernarbung bzw. Sklerosierung, erkennen ließ. Insgesamt betrachtet zeigte sich mit der PAP-Methode in nur 2 von 14 Fällen von fokal-segmental sklerosierender GN ein immunhistologischer Befund, der deutlich positive Ablagerungen mit IgM in segmental verödeten Schlingenanteilen erkennen ließ (siehe Abb.17 und 18). Die restlichen 12 Fälle konnten derartige immunhistologische Veränderungen nicht aufweisen, und die Komplementfaktoren C3 und C4 ließen sich praktisch nicht darstellen.

Tabelle 19 soll die dargestellten Ergebnisse bei den fokal-segmental sklerosierenden GN verdeutlichen. Abbildung 17 und 18 zeigt den PAP-Befund in einem der beiden Fälle, bei dem IgM-positive Ablagerungen in dem fokalen Skleroseherd nachweisbar waren.

Tab.18: Immunhistologische Befunde der IMF in 11 Fällen von fokal-segmental sklerosierender GN.

 $(++^n$: Anzahl der Fälle)[illegible]

Tab.19: Immunhistologische Befunde der PAP-Methode in 14^a Fällen von fokal-segmental sklerosierender GN.

a: In 3 der 14 Fälle fehlte ein entsprechender IMF-Befund.

(++ⁿ: Anzahl der Fälle)

DEPOT-LOKALISATION												
	MEMBRANOS	MESANGIAL	BOWMAN'S KAPSEL	HALBMONDE	VÖLLIGE VERDÜNNUNG	SEGMENTALE VERDÜNNUNG	TBM DEPOTS	TUBULUS - ZELLEN DEPOTS	TUBULARE ZYLINDER	ARTERIÖLEN - -AA-DEPOTS	VERTEILUNG	FALLE NEG. / POS.
IGG	++ ¹	++ ¹	-	-	-	++ ¹	-	++ ³	++ ²	-	F/S	12/2
IGA	-	-	-	-	-	-	-	-	++ ²	-	-	14/0
IGM	++ ¹	++ ²	-	-	+++ ¹	++ ⁴	-	-	-	-	F/S	8/6
Fibr	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	14/0
C 3	++ ¹	-	-	-	-	-	-	++ ³	++ ¹	-	F/S	13/1
C 4	-	-	-	-	-	++ ¹	-	-	-	-	F/S	13/1



Abb.17: Fokal-segmental sklerosierende GN.
Mäßiggradige Ablagerungen von IgM in den
fokalen Skleroseherden (→).
(Ölimmersion, 1000fache Vergrößerung).

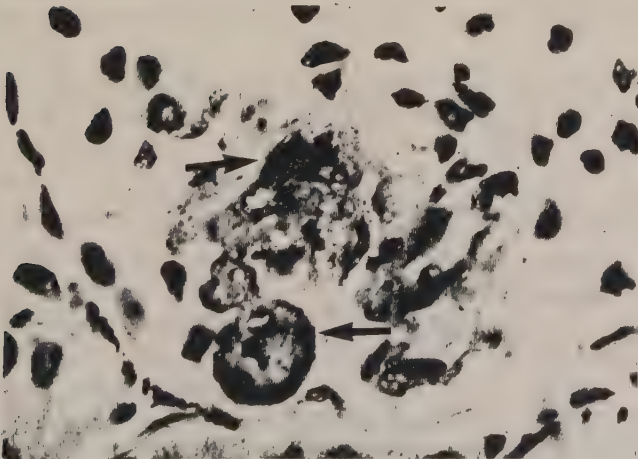


Abb.18: Fokal-segmental sklerosierende GN.
Tieferer Abschnitt aus demselben Glome-
rulum mit einer Ausschnittvergrößerung
(Ölimmersion, 12000fach) eines fokalen
Skleroseherdes (→), in dem IgM-po-
sitive Ablagerungen nachweisbar sind.

3.9. Schönlein-Henoch-Syndrom

3.9.1. Charakterisierung dieser GN-Form

Das Schönlein-Henoch-Syndrom (SHS), synonym auch als anaphylaktoide Purpura bezeichnet, stellt eine generalisierte Vaskulitis dar, die sich durch eine Symptomentrias, bestehend aus Hautveränderungen (akut auftretende, rezidivierende oder persistierende Purpura), Abdominalsymptomen (Krämpfe, Erbrechen, Melaena, Hätemesis) und Gelenkbeschwerden, äußert (BOHLE et al. 1984, JENIS und LOWENTHAL 1977).

Kommt es im Rahmen dieses Syndroms zu einer Beteiligung der Nieren, was in der Literatur mit unterschiedlicher Häufigkeit von 20-80% angegeben wird (ALBINI et al. 1979; HEATON et al. 1977; LEVY et al. 1976), so handelt es sich um eine Glomerulonephritis, die von der Mehrzahl der Autoren als fokal/segmental proliferative Glomerulonephritis bezeichnet wird (BOHLE et al. 1984).

Ätiologisch scheinen Infektionen, vor allem des oberen Respirationstraktes, eine Rolle zu spielen, jedoch kommen auch Medikamente und Nahrungsmittel als Allergene in Frage (ALBINI et al. 1979; JENIS und LOWENTHAL 1977).

3.9.2. Licht- und immunfluoreszenzmikroskopische Befunde

3.9.2.1. Lichtmikroskopische Veränderungen

Die histologischen Befunde zeigten in allen 11 Fällen eine Mesangiumzellproliferation und Mesangiummatrixzunahme als wesentliche pathologische Veränderung. Dabei war die Proliferation in 3 Fällen mittel- bis hochgradig, in 8 Fällen jedoch sehr gering bis gering ausgeprägt. 5 Fälle wiesen eine fokale und segmentale, 6 Fälle eine mehr diffuse und globale Verteilung auf. Halbmondbildungen fanden sich entsprechend der Schwere der glomerulären Alteration in 5 Fällen.

Die glomerulären Veränderungen konnten in allen Fällen aus histologischer Sicht mit der Diagnose eines SHS vereinbart werden, zeigten jedoch in 2 Fällen Befunde im Sinne von einer fokal-segmental proliferativen GN, in einem Fall von sog. Minimalveränderungen und in einem Fall von membranoproliferativer GN.

3.9.2.2. Immunhistologische Befunde der IMF

Die IMF-Befunde, die in 10 Fällen zur Verfügung standen, zeigten in einem Fall ein negatives Ergebnis und in 9 Fällen folgende Fluoreszenzmuster:

IgG war in 4 Fällen geringgradig ausgeprägt in den Mesangien, und zusätzlich auch in peripheren Kapillarschlingen (2x) nachweisbar. Extraglomerulär fanden sich in einem Fall positive tubuläre Zylinder.

IgA war nahezu konstant in 8 von 10 Fällen sowohl mesangial (8x), als auch geringgradig in Kapillarschlingen in 3 dieser Fälle zu sehen.

IgM und Fibrinogen fanden sich gleich häufig (4x) und geringgradig ausgeprägt in mesangialen Bereichen, wobei IgM in 5 Fällen auch an den glomerulären Basalmembranen abgelagert war, in einem Fall davon in Form von grob-granulären Depots.

C3 und C4 ließen geringgradige Befunde in den Mesangien (C3 in 5 Fällen, C4 in 2 Fällen) erkennen, sowie ebenfalls Fluoreszenzen in den Kapillarschlingen (C3 in 4 Fällen, C4 in einem Fall).

Eine zusammenfassende Darstellung der IMF-Befunde zeigt Tabelle 20.

3.9.3. Ergebnisse der PAP-Methode

3.9.3.1. Anzahl der Fälle

Bei den insgesamt 15 mit der PAP-Methode bearbeiteten Fällen konnte in 4 davon kein Befund erhoben werden, da das Material nur aus Nierenmarkgewebe bestand und keine Glomerula aufwies.

10 Biopsien waren einem Vergleich mit der Immunfluoreszenz zugänglich, ein Fall war jedoch mit dieser Methode nicht untersucht worden. Insgesamt konnte in 5 Fällen mit der PAP-Methode kein, in 6 jedoch ein positiver immunhistologischer Befund erhoben werden.

3.9.3.2. Darstellung der PAP-Befunde

Die semiquantitative Auswertung führte bei den 6 positiven Befunden mit der PAP-Methode zu folgenden Immunsubstanzablagerungen und bevorzugten Lokalisationen: Mit IgG stellten sich in allen Fällen geringgradige, überwiegend fein-granuläre IgG-Depots dar. Nur der oben erwähnte Fall einer membranoproliferativen Verlaufsform war mit IgG negativ.

Die Verteilung war fast ausschließlich fokal (5x), sowie weniger deutlich segmental (1x) betont. In allen Fällen fanden sich die Depots im mesangialen Bereich, in 2 Fällen sah man auch eine Beteiligung der GBM. Geringgradige Ablagerungen ließen sich inkonstant in Arteriolen, sowie jedoch regelmäßig, in tubulären Zellen nachweisen.

IgA zeigte nur in 3 Fällen ein positives Resultat, jedoch in mittelgradiger Ausprägung, sowie vornehmlich in mesangialer Position, fokal akzentuiert und mit überwiegend globaler Verteilung. Wie mit IgG, war auch mit IgA eine Mitbeteiligung der GBM feststellbar. Die membranoproliferative Verlaufsform war, wie mit IgG, auch mit IgA negativ, 2 weitere Fälle zeigten eine Negativität mit IgA.

IgM wurde in allen 6 Biopsien in gering-bis mittelgradiger Stärke vorgefunden, in mesangialer, aber auch regelmäßig in peripheren Kapillarschlingen, sowohl fokal (4x) als auch diffus (2x) verteilt und in den Glomerula in einer globalen Ausdehnung. In einem Fall ließen sich IgM-positive Depots in segmental, als auch in völlig verödeten Glomerula nachweisen.

Fibrinogen-Anfärbungen wiesen in 2 Fällen negative, in 4 jedoch gering- bis mäßiggradige, ausschließlich mesangial zu findende Ablagerungen auf. Sowohl eine diffuse (2x), als auch eine fokal betonte (2x) Verteilung war anzutreffen, in den Glomerula herrschte jedoch ein globales Muster vor. Nur in einer Biopsie ließen sich Fibrinogen-Niederschläge in segmental verödeten Bezirken auffinden.

C3-Befunde ergaben in 5 Fällen ein positives, in einem weiteren Fall ein fraglich positives Ergebnis; ein geringgradig, fein-granulärer, mesangialer Typ herrschte vor (5x); in 2 Fällen fanden sich Depots im Bereich der GBM, in zwei weiteren Fällen auch Depots in intertubulären Arteriolen sowie in einem Fall umschriebene Depots im Bowman's Kapselepitel.

C4 konnte nur in einem Fall in mesangialer Position aufgefunden werden.

Zusammenfassend läßt sich anhand der 6 positiven PAP-Befunde von GN im Rahmen eines SHS eine deutlich fokale Ablagerung bei allen Ig-Arten feststellen. Die Glomerula selbst sind dabei vornehmlich global (siehe Abb. 19), nur mit IgG segmental betont (siehe Abb. 20), betroffen gewesen. Eine Prädominanz von IgA in mesangialer Position ist bei den hier vorliegenden Ergebnissen nur bei 3 Fällen feststellbar gewesen.

Eine Zusammenfassung der Ergebnisse verdeutlicht Tabelle 21.

Abbildung 19 zeigt den PAP-Befund eines Falles von Schönlein-Henoch-Nephritis mit globalen mesangialen IgA-Ablagerungen, und Abbildung 20 zeigt bei dem gleichen Fall mesangiale und segmental betonte IgG-positive Ablagerungen.

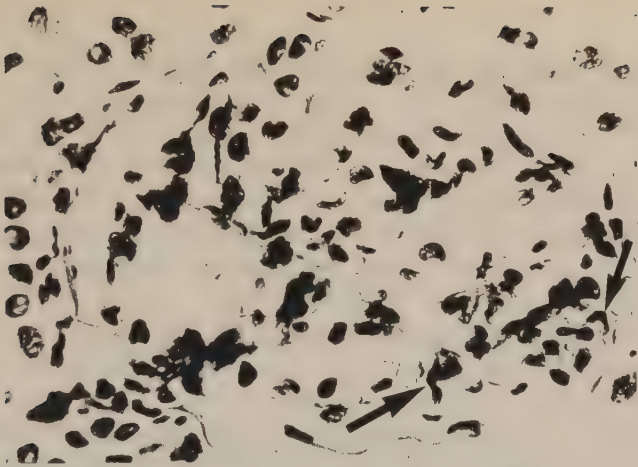


Abb.19: Schönlein-Henoch-Nephritis.
IgA-positive Ablagerungen in den Mesangien, die global in dem Glomerulum verteilt sind und an einigen Stellen eine geringfügige Beteiligung von peripheren Kapillarschlingen zeigen (→).
(Ölimmersion, 1000fache Vergrößerung)



Abb.20: Schönlein-Henoch-Nephritis.
Mesangiale Ablagerungen von IgG, die im Gegensatz zu Abb. 19 eine segmentale Betonung zeigen.
(Ölimmersion, 1000fache Vergrößerung)

3.10. Systemischer Lupus Erythematoses

3.10.1. Charakterisierung dieser GN-Form

Der systematisierte Lupus Erythematoses (SLE) stellt eine Systemerkrankung dar bei der Haut, Gelenke, Zentralnervensystem, Lunge, Leber, Blutzellen, vor allem aber sind die Nieren in den Krankheitsprozeß einbezogen (BOHLE et al. 1984; MIESCHER et al. 1976; SILVA 1983; ZOLLINGER und MIHATSCH 1978).

Pathogenetisch handelt es sich um einen Autoimmunprozeß, der mit Bildung von Antikörpern gegen DNS und andere Zellstrukturen einhergeht und zu einer Ablagerung von Immunkomplexen in den verschiedenen Organsystemen führt (AGNELLO et al. 1973; BOHLE et al. 1984; JENIS und LOWENTHAL 1977; KOFFLER et al. 1971).

Bei einer Miterkrankung der Niere, die in der Literatur zwischen 50-80% angegeben wird (ZOLLINGER und MIHATSCH 1978), werden vornehmlich glomeruläre Läsionen mit Entwicklung der verschiedensten Glomerulonephritiden beobachtet, jedoch sind Tubuli, Gefäße und das Interstitium häufig ebenfalls betroffen (BOHLE et al. 1984; BRENTJES et al. 1975; KINCAID-SMITH 1975; PARONETTO und KOFFLER 1965). Die im Verlauf eines SLE auftretende Miterkrankung der Niere wird mit dem vereinfachenden Begriff einer "Lupusnephritis" umschrieben, obwohl bekannt ist, daß die beim generalisierten LE zu beobachtenden GN-Formen sich morphologisch nicht von den idiopathischen Glomerulonephritiden unterscheiden lassen (BOHLE et al. 1984). Die Einteilung der Lupusnephritis erfolgte bei dem eigenen Untersuchungsmaterial nach PIRANI und POLLAK (1978), die folgende vier Formen unterscheiden: 1. Minimale Lupusnephritis, 2. geringgradige (fokal) proliferative Lupusnephritis, 3. schwere (diffuse) proliferative Lupusnephritis, 4. membranöse Lupusnephritis.

In den hier herangezogenen IMF-Befunden lag in einigen

Fällen (3x) die, von der World Health Organization (WHO) 1974 ausgearbeitete Klassifikation der Lupusnephritis vor (zitiert bei SILVA 1983).

Es ergab sich dadurch eine etwas unterschiedliche Klassifikation, so daß bei der Darstellung der Befunde der Schwerpunkt auf eine deskriptive Beschreibung der glomerulären Veränderungen gelegt werden soll.

3.10.2. Licht und immunfluoreszenzmikroskopische Befunde

3.10.2.1. Lichtmikroskopische Veränderungen

Die Glomerula waren bei 5 der insgesamt 14 Fälle überwiegend unauffällig, und nur an einzelnen Nierenkörperchen bestand eine geringgradige Mesangiumzellproliferation und eine diskrete Zunahme der mesangialen Matrix. An den tubulären Strukturen, den Gefäßen und im Interstitium waren keine Veränderungen nachweisbar. Es ergab sich somit in diesen 5 Fällen kein eindeutiger, von der Norm abweichender histologischer Befund, der mit der Diagnose einer minimalen Lupusnephritis vereinbar war. Eine gering ausgeprägte Verbreiterung des Mesangiums an fast allen Glomerula, die auf eine geringe Matrixvermehrung und eine diskrete Zellvermehrung zurückzuführen war, wurde in einem Fall angetroffen. Die glomerulären Basalmembranen waren meistens dünn und zart, und nur gelegentlich bestand der Eindruck einer geringen Basalmembranverdickung. Die Veränderungen entsprachen damit einer geringgradigen proliferativen Lupusnephritis.

Eine schwere, diffus proliferative Lupusnephritis wurde in 7 Fällen vorgefunden. Die Glomerula waren in allen diesen Fällen durch eine ausgeprägte Proliferation der Mesangiumzellen zellvermehrte. Daneben waren auch eine Zunahme der Mesangiummatrix, segmentale Schlingenvernarbungen, unterschiedlich schwer ausgeprägte Halbmondbildungen und vereinzelt segmentkernige Leukozyten vorhanden. Insgesamt

lag in diesen Fällen eine schwere glomeruläre Schädigung vor, die diffus und global verteilt war. Eine membranöse Lupusnephritis kam in keinem Fall zur Beobachtung.

3.10.2.2. Immunhistologische Befunde der IMF

Die immunhistologischen Befunde der IMF zeigten in 5 von 14 Fällen eine rein mesangiale Beteiligung der Glomerula, die diffus und global verteilt war. In 2 dieser 5 Fälle waren die Fluoreszenzen geringgradig mit IgG, A, M, C3/C4 bzw. mit IgG und C3/C4 ausgeprägt. Deutlich positive Befunde lagen in 3 von 5 Fällen vor, die mesangiale Fluoreszenzen mit IgG, C3/C4 (1x), IgA, M, C3/C4 (1x) sowie IgG, A, M, C3/C4 (1x) erkennen ließen. Eine Beteiligung von Kapillarschlingen wurde in keinem dieser 5 Fälle beobachtet.

Extraglomerulär wurden Ablagerungen in peritubulären (1x) und vaskulären (2x) Strukturen beobachtet.

Neben mesangialen Ablagerungen konnte in 2 von 14 Fällen auch eine endomembranöse Schlingenbeteiligung festgestellt werden, die jedoch geringer ausgeprägt war, als die mesangiale Komponente. In einem Fall war dabei IgG in den Schlingen und Mesangien, C3 nur in den Mesangien lokalisiert. Der andere Fall zeigte mesangiale IgG-, A-, M- und C3/C4-positive Fluoreszenzen und IgG-, A- und M-positive Ablagerungen in den Kapillarschlingen. Extraglomerulär waren bei einem Fall kleinere Gefäße dargestellt.

In 2 von 14 Fällen fanden sich, zusätzlich zu IgM- und C3/C4-positiven bzw. IgG-, A-, M- und C3/C4-positiven Ablagerungen mesangial, perimembranöse Depots, die in je einem Fall mit IgG bzw. mit IgG und C3/C4 positiv waren.

Ein typisches Fluoreszenzbild einer Lupusnephritis mit einem sehr vielgestaltigen Ablagerungsmuster lag in 3 von 14 Fällen vor. Die Befunde waren in diesen Fällen stark ausgeprägt und ließen Ablagerungen in den Mesan-

gien, endokapillär und perimembranös erkennen. Dabei handelte es sich in 2 Fällen um IgG, A, M und C3 und in einem Fall zusätzlich noch um C4. Ein tubulo-interstieller Befund mit IgG zeigte sich in einem dieser Fälle. Ein positiver Befund vom perimembranösen Typ mit IgG- und IgM-positiven Granula ergab sich in einem von 14 Fällen, wobei zusätzlich interstitielle, rundliche IgG-, IgM- und C3-positive Depots zu sehen waren. Ein negativer IMF-Befund mit allen Immunsubstanzen lag in einem von 14 Fällen vor.

Eine zusammenfassende Darstellung der IMF-Befunde in 14 Fällen von Lupusnephritis zeigt Tabelle 22.

3.10.3. Ergebnisse der PAP-Methode

3.10.3.1. Anzahl der Fälle

Eine Lupusnephritis lag in diesem Biopsiegut in 19 Fällen vor und konnte in 5 Fällen davon keinen auswertbaren PAP-Befund liefern, da nur Anschnitte von Nierenmarkgewebe zu sehen waren. Die restlichen 14 Fälle waren alle mit den entsprechenden IMF-Befunden vergleichbar.

3.10.3.2. Darstellung der PAP-Befunde bei vorliegenden IMF-Befunden

Ein negativer PAP-Befund mit allen Immunsubstanzen lag in 7 von 14 Fällen vor und konnte somit nicht auf das Vorliegen einer Lupusnephritis hinweisen.

Die in 7 von 14 Fällen positiven PAP-Befunde zeigten in einem Fall ein rein mesangiales Ablagerungsmuster, das mit IgG, A und M stark positiv war, während die Komplementfaktoren C3 und C4 nicht vorgefunden wurden. In 3 von 7 positiven Fällen lagen stark positive, mesangiale Ablagerungen mit IgG, A, M, Fibrinogen und C3 (1x), mäßiggradige mit IgG, A und M (1x) sowie geringgradige mit IgM und Fibrinogen (1x) vor. Neben dieser mesangialen Beteiligung der Glomerula waren in diesen 3 Fällen zu-

sätzlich perimembranöse Depots, jeweils in einigen Kapillarschlingen, zu beobachten. Diese perimembranösen, z.T. sehr feinen Depots, stellten sich in 2 Fällen mit IgG und IgM und in einem Fall mit IgG, M und Fibrinogen dar. Extraglomerulär waren in einem Fall kleinere Gefäße mit IgA und IgM positiv.

Weitere 2 Fälle zeigten sowohl eine Ablagerung in den Mesangien mit IgG (1x) und IgG, A, M, Fibrinogen und C3/C4 (1x), als auch Depots in endomembranösen und perimembranösen Bereichen der glomerulären Kapillarschlingen (siehe Abb. 21 und 22).

Diese Depots waren in beiden Fällen mit IgG, M und Fibrinogen positiv darstellbar und bei einem dieser Fälle lagen ebensolche Depots auch mit C3 vor.

In einem Fall lag ein positiver Befund vom perimembranösen Typ mit sehr dicken, z.T. auch konfluierenden IgM-Depots vor. Daneben waren grobe IgG- und IgM-positive Ablagerungen interstitiell zu sehen, wie auch IgM-positive kleinere Gefäße.

Eine zusammenfassende Darstellung der PAP-Befunde zeigt Tabelle 23.

In Abbildung 21 und 22 ist ein Fall von Lupusnephritis dargestellt, bei dem der PAP-Befund neben mesangialen IgG-positiven Ablagerungen auch IgG-Depots sowohl an der Außen- als auch an der Innenseite der glomerulären Kapillarwand zeigt.



Abb. 21: Lupus-Nephritis.
Vornehmlich mesangiale Ablagerungen von IgG, daneben jedoch auch feinste Depots an der Außenseite (→) der glomerulären Kapillarschlingen.
(Ölimmersion, 1000fache Vergrößerung)

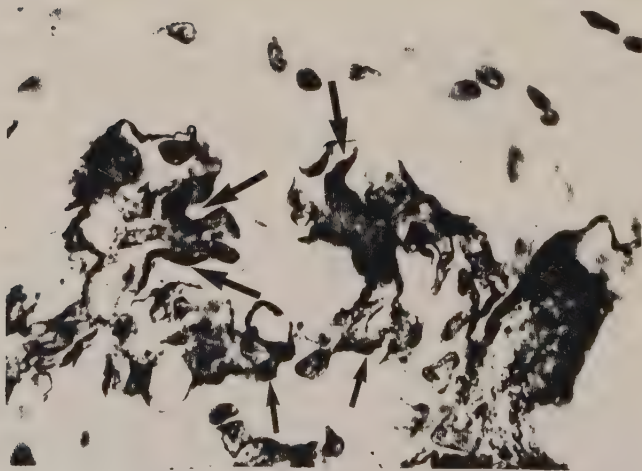


Abb. 22: Lupus-Nephritis.
Bei stärkerer Vergrößerung (Ölimmersion, 12000fach) desselben Glomerulum sind neben IgG-positiven Ablagerungen an der Außenseite (→), auch feinste Ablagerungen subendothelial zu erkennen (→→).

4. DISKUSSION DER PAP-ERGEBNISSE

4.1. Exsudativ-proliferative GN

4.1.1. Vergleich der PAP-Befunde mit den IMF-Befunden

Die PAP-Befunde konnten in 12 Fällen von exsudativ-proliferativer GN einem Vergleich mit denjenigen der IMF unterzogen werden. Es ergab sich mit beiden Methoden eine gute Übereinstimmung der immunhistologischen Befunde in 9 Fällen. In 3 weiteren Fällen konnte ein positiver PAP-Befund bei negativen Ergebnissen der IMF erhoben werden. Die 9 Fälle, die eine gute Korrelation zeigten, wiesen dabei mit beiden Methoden in 5 Fällen einen Komplementbefund mit C3 auf, ohne daß Immunglobuline anwesend waren. Ein Nachweis von C4, der mit der IMF dabei in 3 von 5 Fällen zusätzlich neben C3 in den Mesangien vorgefunden wurde, war mit der PAP-Methode nicht nachvollziehbar. Die C4-Befunde der IMF waren relativ gering und nicht sehr gut lokalisierbar. Der kombinierte Befund mit C3/C4 bei den IMF-Befunden spricht für eine Aktivierung des Komplementsystems auf dem sog. "klassischen" Weg (GÖTZE und MÜLLER-EBERHARD 1971, 1976; MÜLLER-EBERHARD 1974; VERROUST et al. 1974), der alleinige C3-Nachweis, bei fehlenden C4-Ablagerungen bei den PAP-Befunden deutet dagegen auf eine Aktivierung des sog. "alternativen" Weges hin (GÖTZE und MÜLLER-EBERHARD 1971, 1976; MÜLLER-EBERHARD 1974). Vergleichbare IMF-Studien anderer Autoren ergaben bei den postinfektiösen GN keine strikte Bindung der Komplementaktivierung an einen der beiden Wege (BERGER et al. 1974; CAMERON et al. 1973; WEST et al. 1973), so daß hinsichtlich der immunhistologischen Diagnose, die Befunde beider Methoden jeweils mit einer postinfektiösen GN zu vereinbaren sind.

Die PAP-Befunde zeigten, übereinstimmend mit der IMF, C3-positive Ablagerungen, die auf die Mesangien beschränkt waren (3x), und daneben fein-granuläre C3-Depots in den

Kapillarschlingen (2x). Diese, mit der PAP-Methode erhobenen Komplementbefunde in 5 Fällen von postinfektiöser GN, zeigten somit in wesentlichen Punkten eine gute Korrelation zu den eigenen IMF-Befunden, wie auch zu den Ergebnissen der IMF von anderen Autoren (BERGER et al. 1974; GALLO und EMANCIPATOR 1983; McINTOSCH et al. 1978; McLEAN und MICHAEL 1973; MICHAEL et al. 1966; MICHAEL und McLEAN 1974; RICHET et al. 1973; WEST et al. 1973). In weiteren 4 von 9 Fällen ergaben sich mit der PAP-Methode IgG - und C3-positive Befunde. Eine Übereinstimmung mit den IMF-Befunden hinsichtlich der Anwesenheit von IgG und C3 ergab sich dabei in 2 Fällen, wogegen in einem Fall bei der IMF ein IgM-/C3-Befund und in einem Fall ein isolierter C3-Befund vorlag. Die Ergebnisse mit beiden Methoden zeigten demnach in 2 Fällen eine unterschiedliche Zusammensetzung der Immunsbstanzien, wobei sich mit der PAP-Methode ein häufigerer Nachweis von IgG, bei fehlendem Nachweis von IgM ergab.

Dabei ist die eigene Beobachtung mit der von TUBBS und GEPHARDT (1983) vergleichbar, die mit der IMF-Methode bei postinfektiösen GN ebenfalls IgM nicht nachweisen konnten. Eine auffallende Abweichung ergab sich nur in einem Fall, bei dem der PAP-Befund geringgradige IgG-Depots in mesangialen Bereichen, sowie relativ ausgeprägte, fein-granuläre Depots mit IgG und Fibrinogen subendothelial erkennen ließ. Der IMF-Befund war in diesem Fall für Immunglobuline negativ. Es muß dabei offen bleiben, wodurch dieser Unterschied bedingt ist, auch wenn bei diesem Fall mit der PAP-Methode die IgG-Ablagerungen besser nachweisbar waren. Da jedoch die PAP-Ergebnisse hinsichtlich der IgG-Befunde in gutem Einvernehmen mit vielen anderen IMF-Studien stehen (DAVISON und THOMSON 1973; GALLO und EMANCIPATOR 1983; MEADOW 1978; MOREL-MAROGER et al. 1973; RICHET et al. 1973; THOENES G.H. 1973) und in allen 4 Fällen die Befunde von beiden Methoden gut mit dem immunhistologischen

Bild einer postinfektiösen GN übereinstimmten, wurden die dargestellten Abweichungen als nicht wesentlich erachtet. Desweiteren konnte in allen 4 Fällen eine gute Übereinstimmung der PAP-Befunde mit denjenigen der IMF bezüglich der Lokalisation und des Ausprägungsgrades der C3-Depots beobachtet werden. Die C4-Befunde der IMF in 2 Fällen konnten mit der PAP-Methode, wie auch bei den oben dargestellten isolierten Komplementbefunden, nicht nachvollzogen werden. Die PAP-Ergebnisse konnten somit in 9 von 12 Fällen eine gute Korrelation zu den IMF-Befunden aufzeigen. Die dargestellten Abweichungen mit beiden Methoden wurden als nicht wesentlich erachtet, da auch der PAP-Befund gut mit den immunhistologischen Veränderungen einer postinfektiösen GN vereinbar ist.

Die IMF-Befunde zeigten in 3 von 12 Fällen einen negativen Befund für alle Immunglobuline sowie die Komplementfaktoren C3 und C4 und konnten dadurch aus immunhistologischer Sicht keinen Hinweis auf eine postinfektiöse GN erbringen.

Anders dagegen die PAP-Befunde, die in 2 Fällen C3-positive Ablagerungen in den Kapillarschlingen aufwiesen, die zwar geringgradig ausgeprägt waren, aber dennoch in allen Glomerula global verteilt waren. Dabei waren immer wieder vereinzelt sehr feine Granula an der Außenseite der GBM abgrenzbar, und extraglomerulär waren in Tubuluszellen ebensolche Anfärbungen zu beobachten. In einem der 3 Fälle waren mit der PAP-Methode neben geringfügigen C3-Depots in Kapillarschlingen, mäßiggradige IgG- und IgA-positive Befunde zu erheben. Die relativ starken Ablagerungen mit IgG waren dabei hauptsächlich an der Innenseite der GBM, endokapillär lokalisiert und stellten sich mehr als homogene, bandartige Depots dar, so daß einzelne Granula nicht abgrenzbar waren. Eine relativ schlechtere Abgrenzbarkeit bei stärker aus-

geprägten PAP-Befunden in GBM-Bereichen ist eine häufigere Beobachtung bei dieser Methode und wurde auch von anderen Autoren beschrieben (McIVER und MEPHAM 1982; TUBBS und GEPHARDT 1983).

Da die beschriebenen C3-Befunde relativ gering ausgeprägt waren, sollte dies in Übereinstimmung mit McIVER et al. (1979) und SINCLAIR et al. (1981) nicht zwangsläufig als größere Sensitivität der PAP-Methode interpretiert werden. Bei den zitierten Autoren sind ebenfalls geringgradig positive PAP-Befunde bei negativen IMF-Befunden beschrieben. Umgekehrt fanden sich auch negative PAP-Befunde bei positiven IMF-Befunden, doch zeichnet sich auch bei diesen Autoren kein konstantes Ergebnis ab.

Der deutliche Befund mit IgG bei einem Fall hingegen sprach für eine bessere Nachweisbarkeit dieses Immunglobulins mit der PAP-Methode, was mit der Beobachtung bei einem weiteren Fall übereinstimmen würde.

Verglichen mit den histologischen Veränderungen, die in allen 3 Fällen einem Restzustand nach einer abgelaufenen postinfektiösen GN entsprachen, waren die IgG- und C3-Befunde der PAP-Methode gut mit dem immunhistologischen Bild bei dieser Form von GN zu vereinbaren.

4.1.2. Vergleich der PAP-Befunde mit den histologischen Befunden

Das untersuchte Biopsiematerial enthielt neben den 12 dargestellten Fällen, die mit IMF-Befunden verglichen werden konnten, auch 4 Fälle von exsudativ-proliferativer GN, die keine immunhistologischen Befunde aufwiesen und nur mit der PAP-Methode bearbeitet wurden.

In allen 4 Fällen ließ sich dabei ein immunhistologisch positiver Befund mit IgG und C3 erheben. IgG war in 3 Fällen diffus und global in mesangialen Bereichen verteilt und ließ z.T. fein-granuläre Depots erkennen. Regelmäßig waren in diesen 4 Fällen die Kapillarschlingen

durch IgG-positive Ablagerungen dargestellt, und es lagen überwiegend mehr bandartige Depots vor, die nur hin und wieder feine Granula in subendothelialen Bereichen zeigten. Große epimembranöse Depots, in Form sog. "Humps" ließen sich nicht sicher lokalisieren. Mit C3 lagen ähnliche Befunde an den Kapillarschlingen vor, doch waren sie durchwegs geringer ausgeprägt, als diejenigen mit IgG. Histologisch lag in einem Fall eine mäßiggradige, exsudativ-proliferative GN vor und in 3 Fällen eine mittelschwere mesangioproliferative GN, die wesentliche exsudative Läsionen vermissen ließen und mit einem in Rückbildung begriffenen Stadium einer akuten postinfektiösen GN vereinbart wurden.

Das immunhistologische Bild der PAP-Befunde stimmte, unter Berücksichtigung der beschriebenen histologischen Veränderungen somit gut mit der Diagnose einer postinfektiösen GN überein. Auch zeigten sich bei den eigenen Fällen PAP-Ergebnisse, die sowohl mit den IMP-Befunden (TUBBS und GEPHARDT 1983), als auch mit den IMF-Befunden übereinstimmen, die in verschiedenen Untersuchungen bei postinfektiöser GN angegeben werden (BURKHOLDER 1973; CHURG und GRISHMAN 1975; GALLO und EMANCIPATOR 1984; MIHATSCH 1979; MOREL-MAROGER et al. 1973).

Die dargestellten Befunde der PAP-Methode in 16 Fällen von exsudativ-proliferativer GN zeigten übereinstimmend gute Ergebnisse, die durch den fast ausschließlichen Nachweis von IgG, als dem am intensivsten dargestellten Immunglobulin und regelmäßigen C3-Ablagerungen, gekennzeichnet waren.

Der fehlende Nachweis von C4-Ablagerungen in einigen Fällen muß als eine zu geringe Sensitivität der PAP-Methode bei der Darstellung von Komplementfaktoren gewertet werden (McIVER et al. 1979; McIVER und MEPHAM 1982; VERRAUST et al. 1974).

Die C4-positiven Depots waren dabei in den IMF-Befunden

als geringfügige und schwache Fluoreszenzen beschrieben, so daß der Nachweis solcher nur in geringem Ausmaß abgelagerten Depots mit der PAP-Methode nicht möglich erscheint (SINCLAIR et al. 1981). Es sollte jedoch berücksichtigt werden, daß diese Abweichung in keinem Fall die immunhistologische Diagnose beeinflusste und die PAP-Ergebnisse in allen Fällen eindeutig für das Vorliegen einer postinfektiösen GN sprachen.

In Übereinstimmung mit MESA-TEJADA et al. (1981) konnten IgG-positive Befunde sehr konstant erhoben werden, und in einigen Fällen ließ sich im Vergleich zur IMF sogar eine höhere Sensitivität feststellen.

Die PAP-Ergebnisse, die an Fällen mit fehlenden IMF-Befunden erhoben wurden, konnten in allen Biopsien das immunhistologische Bild einer postinfektiösen GN aufzeigen und trugen somit wesentlich zur Diagnose bei.

Die aufgezeigten und mit den IMF-Befunden verglichenen Ergebnisse der PAP-Methode ließen in allen Fällen von exsudativ-proliferativer GN konstante und für eine immunhistologische Diagnose verlässliche Resultate erkennen. Die PAP-Methode kann damit nach den eigenen Erfahrungen bei der exsudativ-proliferativen GN durchaus alternativ zu immunfluoreszenzmikroskopischen Verfahren eingesetzt werden.

4.2. Mesangial-/ endokapillär-proliferative GN

4.2.1. Vergleich der PAP-Befunde mit den IMF-Befunden

Negative PAP-Befunde in 4 Fällen zeigten gleichfalls negative IMF-Befunde, sieht man von 2 Fällen ab, die sehr geringe Befunde mit Komplement C3 mesangial und IgG, IgM und C3 im Schlingenkonvolut aufwiesen. In beiden Fällen wurde dieser Befund als fraglich erachtet.

Histologisch lag in 3 Fällen eine geringgradige Verbreiterung der Mesangien und in einem Fall eine mäßiggradige mesangiale Betonung vor, die in erster Linie durch eine Proliferation der Mesangiumzellen bedingt war.

PAP-Befunde, die für alle Antikörper negativ waren, zeigten demnach auch mit der IMF eine negative Immunhistologie. Umgekehrt lag kein Fall mit negativem PAP-Befund bei positivem IMF-Befund vor. Zeigten PAP-Befunde eine negative Immunhistologie, so stimmte dies mit negativen IMF-Befunden überein. Eine gute Korrelation der beiden Methoden bei negativen Ergebnissen wurde in vergleichbaren Untersuchungen auch von anderen Autoren festgestellt (McIVER et al. 1979; SINCLAIR et al. 1981; TUBBS et al. 1980).

In 5 Fällen wurden mit der PAP-Methode uncharakteristische, vorwiegend isoliert C3-positive Befunde in glomerulären Strukturen, wie auch in tubulären Zellen und Zylindern vorgefunden. Die IMF-Befunde zeigten dabei in 3 Fällen ebenfalls mit C3 positive, untypische und nicht genauer lokalisierbare Depots. C4-Befunde der IMF in 2 Fällen, unbestimmte Anfärbungen mit IgM in 3 Fällen und IgA in einem Fall, konnten mit der PAP-Methode nicht beobachtet werden. Mit der IMF war in 4 Fällen keine abschließende immunhistologische Diagnose möglich, und in einem Fall wurde der Verdacht auf eine Fokalsklerose geäußert, ohne daß dafür jedoch typische Befunde vorlagen. Ein Fall mit einem IgM-positiven Befund aus-

schließlich an Polgefäßen war auch mit der PAP-Methode sehr gut darstellbar.

Histologisch zeigten 4 Fälle hochgradige mesangioproliferative Veränderungen und Schlingenvernarbungen, ein Fall nur eine geringgradige Betonung der Mesangien. Uncharakteristische PAP-Ergebnisse entsprachen damit ebensolchen Ergebnissen der IMF. In einem Teil der Fälle konnten allerdings die IgA-, IgM- und C3-positiven IMF-Befunde mit der PAP-Methode nicht dargestellt werden. Auch ließen die PAP-Befunde keine eindeutige Interpretation zu. Diese Abweichung in der Zusammensetzung der Immunglobuline zwischen den beiden Methoden beeinflusste in keinem Fall die Ergebnisse. Differenzen dieser Art mit beiden Methoden fanden sich auch bei anderen Autoren und wurden nicht als geringere Sensitivität der PAP-Methode gewertet (McIVER et al. 1979).

Abweichende Ergebnisse wurden in 5 Fällen festgestellt. Es waren dies immer Fälle mit negativem IMF-Befund der Immunglobuline aber positiven PAP-Ergebnissen. Der IMF-Befund zeigte davon in 2 Fällen Fluoreszenzen mit C3 an kleineren Gefäßen, während sich mit der PAP-Methode auch Depots in mesangialen Bereichen mit IgG, IgM und C3 nachweisen ließen. Sie waren von geringer Intensität, ausgenommen IgG, das stärkere Anfärbungen mesangial und in Kapillarlumina aufwies. Zwei weitere Fälle ergaben bei der IMF positive mesangiale Befunde mit C3 und C4, während mit der PAP-Methode neben diesen Komplementablagerungen zusätzlich auch Immunglobuline gefunden wurden. In einem Fall handelte es sich dabei um IgA-Ablagerungen in mesangialen Bereichen, im Bowman's Kapsel epithel und in kleinen Gefäßen, während bei dem zweiten Fall IgM-Depots in den Mesangien vorlagen. Eine auffallende Diskrepanz ergab sich bei einem weiteren Fall, der einen gänzlich negativen IMF-Befund aufwies, aber mit der PAP-Methode mesangiale Depots mit IgG, IgA und Fibrinogen, sowie C3/C4 erkennen ließ. Zusätzlich waren

in peripheren Kapillarschlingen Fibrinogen-Ablagerungen und in kleinen Gefäßen IgG, IgA und C3 nachweisbar. Histologisch handelte es sich in 4 dieser 5 Fälle mit abweichendem Ergebnis um mäßiggradige, in einem Fall um eine geringgradig ausgeprägte mesangioproliferative GN. Die abweichenden Ergebnisse der beiden Methoden und mögliche Ursachen dafür sind unklar. Einerseits ergab sich bei den PAP-Befunden kein Anhalt für unspezifische Reaktionen: die Depots waren klar abgrenzbar und in verschiedenen Schnittstufen desselben Glomerulums konstant nachweisbar. Eine unspezifische Hintergrundsanfärbung wurde nicht beobachtet. Die Anzahl von untersuchten Nierenkörperchen lag bei beiden Methoden zwischen sechs und zehn Glomerula, so daß als Erklärung ein Unterschied im Biopsiematerial wenig wahrscheinlich ist. Auch war der Unterschied in 4 Biopsien durch einen nur geringgradigen PAP-Befund bedingt und führte in keinem Fall zu einer abweichenden Diagnose. SINCLAIR et al. (1981) beschrieben positive PAP-Befunde bei negativer IMF, ohne jedoch dieser Beobachtung große Bedeutung zuzumessen und ohne sie zu erklären.

Positive immunhistologische Befunde mit beiden Methoden ergaben sich in 15 Fällen.

Mit beiden Methoden ließ sich eine Überwiegend mesangiale Ablagerung von Immunglobulinen feststellen und die PAP-Ergebnisse ergaben, wie auch die IMF, keine typischen Muster, welche eine abweichende immunhistologische Diagnose ergeben hätten. IgA war bei beiden Methoden das am häufigsten nachgewiesene Immunglobulin in den Mesangien, in der Regel zusammen mit IgM und/oder IgG, sowie Komplement C3. Die Intensität der IgA-Anfärbungen war mit der PAP-Methode durchschnittlich geringgradig und nur in einigen Fällen mit der mäßiggradigen Bewertung der IMF übereinstimmend. IgM-Depots wurden mit beiden Methoden etwas weniger häufig als

IgA angetroffen. Wie bei IgA waren auch mit IgM die PAP-Anfärbungen geringgradig. Unterschiede ergaben sich mit IgG, das in den Mesangien bei den PAP-Befunden gleich häufig wie IgM vorhanden war, mit der IMF jedoch nur gelegentlich gefunden wurde. Welchen Stellenwert diese Beobachtung hat, ist noch unklar. Immunhistologische Untersuchungen der mesangioproliferativen GN von anderen Autoren zeigten Ergebnisse, die IgG, IgA und IgM in mesangialen Bereichen etwa gleich häufig nachwiesen und somit den hier erhobenen PAP-Ergebnissen durchaus vergleichbar waren (BHASIN et al. 1978; KINCAID-SMITH 1975; JENIS und LOWENTHAL 1977; ROSEN 1983; THOENES W. 1979; WALDHERR et al. 1978; WILSON und DIXON 1974). Andererseits liegen auch Ergebnisse vor, die IgG-Ablagerungen weniger konstant als IgA- und IgM-Depots nachweisen, und die denjenigen der IMF eher entsprechen dürften (DAVISON et al. 1973; GÄRTNER et al. 1978). Ablagerungen in Kapillarschlingen und GBM-Bereichen wurden mit beiden Methoden in einem geringen Teil der Fälle beobachtet und waren mit allen Immunglobulinen darstellbar, ausgenommen C4, das mit der PAP-Methode nicht nachweisbar war. Das Vorkommen verschiedener Immunglobuline im Bereich der glomerulären Basalmembranen bei lichtmikroskopisch rein mesangialen Veränderungen und zarten und unauffällig erscheinenden Basalmembranen ist in vergleichbaren Studien auch von anderen Autoren immer wieder beobachtet worden (DAVISON et al. 1973; DISCHE und PARSONS 1977; KINCAID-SMITH 1975; MEADOW 1978; ROSEN 1983; THOENES W. 1982).

Übereinstimmend mit GÄRTNER et al. (1978) waren Depots in den Kapillarschlingen mit der PAP-Methode häufiger bei histologisch gering- und mäßiggradigen mesangioproliferativen GN anzutreffen, als bei Fällen mit ausgeprägten und schweren mesangialen Veränderungen. In den PAP-Befunden waren in der Regel die peripheren Anteile von Kapillarschlingen betroffen. Diese Beobachtung wurde auch von TUBBS und GEPHARDT (1983) mit der IMP-Methode,

sowie von anderen Autoren mit der IMF gemacht (BHASIN et al. 1978; DAVISON et al. 1973; WALDHERR et al. 1978). Die Beobachtung von MEADOW (1978), wonach vornehmlich Kapillarschlingen, die den Mesangien benachbart sind, Ablagerungen enthalten, ließ sich bei keinem der eigenen Fälle feststellen.

In völlig verödeten Glomerula waren mit der PAP-Methode in einigen Fällen IgG, A, M und Fibrinogen nachweisbar, die zwar bei den IMF-Befunden fehlten, aber von geringer Relevanz sein dürften.

Extraglomerulär fand sich der Hauptbefund mit beiden Methoden an kleineren Gefäßen und Arteriolen. Mit der PAP-Methode waren es vor allem die Immunglobuline IgG und IgM, geringer auch IgA und C3/C4, während mit der IMF vornehmlich IgG, IgM und C3 in den Gefäßen nachweisbar war. C3-Befunde an den Gefäßen waren mit der PAP-Methode im Vergleich zur IMF sowohl in einer geringeren Anzahl von Fällen, als auch mit geringerer Intensität zu sehen. Da in vielen Fällen C3-positive, extraglomeruläre Niederschläge vorlagen, die nicht mit Sicherheit tubulären Basalmembranen, kleinen Gefäßen oder interstitiellen Strukturen zugeordnet werden konnten, ergaben diese Befunde für die Diagnose keine weitere Information. Dadurch blieben nur wenige Fälle, bei denen C3-positive Gefäße als solche erkannt werden konnten. Die Ablagerungen von C3, wie auch von IgG, A und M ließen sich dabei allgemein in den intertubulären Arteriolen besser lokalisieren, wenn die Befunde nur geringgradig ausgeprägt waren. Schwierigkeiten bei der Interpretation von extraglomerulären Strukturen beschrieben auch DAVEY und BUSCH (1970) und bei MURPHY et al. (1973) konnten speziell kleinere Gefäße mit der IMP-Methode nicht sicher identifiziert werden. Beide Autoren verwendeten allerdings eine konjugierte PO-Technik an Gefrierschnitten, so daß diese Ergebnisse nur sehr bedingt mit denjenigen der PAP-Methode vergleichbar sind. Die geringe Inten-

sität von C3-Befunden an Gefäßen entsprach bei diesen Autoren derjenigen im glomerulären Bereich. McIVER et al. (1979) führten ihre schwächeren PAP-Ergebnisse mit den Komplementfaktoren C3 und C4 auf zu lange Trypsin-Inkubationszeiten zurück. SINCLAIR et al. (1981) konnten auch durch kürzere Zeiten keine Verbesserung der Intensität von C3 erzielen. Die allgemein geringere Intensität von C3 in den hier bearbeiteten Fällen, wurde nur als geringer Nachteil der PAP-Methode gegenüber der IMF gewertet. Dieser Nachteil wird mehr als wettgemacht dadurch, daß bei den PAP-Befunden eine genauere Lokalisierung gelingt und die Konstanz von Depots in verschiedenen Schnittführungen eines Glomerulums berücksichtigt und interpretiert werden kann.

4.2.2. Vergleich der PAP-Befunde mit histologischen Befunden

Mit der PAP-Methode wurden 23 Biopsien von mesangioproliferativer GN untersucht und ohne IMF-Befunde anhand der Histologie beurteilt.

In 5 Fällen ergaben sich unspezifische Befunde und in 4 Fällen Minimalbefunde mit allen Immunglobulinen. Histologisch lag bei den 5 unspezifischen Befunden in 4 Fällen eine mäßiggradige, in einem Fall eine geringgradige Proliferation von Mesangiumzellen und Zunahme mesangialer Matrix vor.

Geringe uncharakteristische IMF-Befunde wurden auch von THOENES W. (1982) in 11% seiner Fälle angegeben. Zumindest in 2 Fällen dürfte der PAP-Befund auf nur Gewebetrümmer enthaltendes Biopsiematerial zurückzuführen sein. Negative PAP-Befunde in 4 Fällen zeigten in 3 Fällen histologisch eine mäßiggradige, in einem Fall eine geringgradige mesangioproliferative GN. Bei THOENES W. (1979, 1982) lagen negative IMF-Befunde in weiteren 11% seiner Biopsien vor. GÄRTNER et al. (1978) fanden negative IMF-Befunde in 27% bei geringgradigen und in 14% bei

mäßiggradigen mesangioproliferativen GN. Auch bei DISCHE und PARSONS (1977) ergaben sich in 16% (3 von 19) seiner Fälle negative und in 26% (5 von 19) geringe uncharakteristische IMF-Befunde. Verglichen mit diesen IMF-Untersuchungen, fallen die hier erhobenen PAP-Ergebnisse nicht aus dem Rahmen dessen, was auch bei den genannten Autoren beschrieben ist. Allerdings erscheint eine bessere Nachweisbarkeit von Immunsustanzen durch die PAP-Methode bei Fällen die auch mit der IMF nicht zu klären sind, unwahrscheinlich.

Positive PAP-Ergebnisse konnten in 14 von 23 Fällen erhoben werden und zeigten dabei unterschiedliche immunhistologische Befunde. Der Hauptbefund bestand in 3 Fällen aus gering- bis mäßiggradigen IgA-positiven Depots in den Mesangien. Histologisch lag in allen Fällen eine mäßiggradige mesangioproliferative GN mit zarten und unauffälligen Basalmembranen vor. Diese Befunde sprachen somit dafür, daß es sich bei diesen Fällen tatsächlich um geringgradig ausgeprägte IgA-Nephritiden handelte. Daneben waren bei diesen 3 Fällen von IgA-Nephritis auch geringe mesangiale Depots mit IgG (1x), IgM (1x) und C3 (3x) nachweisbar, was als zusätzlicher Befund bei IMF-Untersuchungen ebenfalls beschrieben ist (GALVANEK 1983; HYMAN et al. 1973; SYRE 1983).

Eine Mitbeteiligung der peripheren Kapillarschlingen war in 2 Fällen mit IgG und C3 bzw. mit IgG, IgA und C3 zu beobachten. Obwohl IgA-Nephritiden durch mesangiale Ablagerungen gekennzeichnet sind (Berger 1969), werden Depots in den Kapillarschlingen in einigen Fällen angetroffen (GALVANEK 1983; SYRE 1983). Die Bedeutung dieser PAP-Befunde an peripheren Kapillarschlingen muß somit offen bleiben, zumal auch bei den angeführten Untersuchungen mit der IMF unterschiedliche Ergebnisse vorlagen.

Klinisch bestand in 2 Fällen eine isolierte Mikrohämaturie bzw. rezidivierende Hämaturie und in einem Fall

ein Zustand nach akuter GN, so daß auch die renalen Symptome mit den PAP-Befunden zu vereinbaren waren. Insgesamt betrachtet, deuten die PAP-Ergebnisse in 3 Fällen mit mesangioproliferativer GN durchaus auf das Vorliegen von geringgradigen IgA-Nephritiden hin.

In weiteren 4 Fällen lagen PAP-Ergebnisse vom mesangialen Typ mit IgG und C3 vor, die geringgradig ausgeprägt waren. Nach dem immunhistologischen Muster waren diese Befunde am ehesten mit Zuständen nach postinfektiöser GN zu vereinbaren. Lichtmikroskopisch bestand in 3 Fällen eine mäßiggradige und in einem Fall eine gering aktive mesangioproliferative GN. In mesangialen Bereichen war nur in einem Fall, neben IgG und C3, auch IgM nachweisbar. Geringgradige mesangiale IgM-Depots bei dieser Form von GN sind als gelegentliche Befunde auch mit der IMF gefunden worden (BHASIN et al. 1978; MICHAEL et al. 1966; RICHET et al. 1973). Homogene Ablagerungen in peripheren Kapillarschlingen waren in allen Fällen zu sehen. Sie zeichneten aber nur jeweils kurze Abschnitte der Kapillarschlingen nach und waren nicht genauer einzelnen GBM-Strukturen zuzuordnen. In 2 Fällen enthielten die Basalmembranen C3, in einem Fall IgG, Fibrinogen und C3 und in einem Fall IgG und C3. Abweichend von den oben genannten IMF-Untersuchungen, beschrieben DAVISON et al. (1973) Immunglobulin-, Fibrin- und Komplementablagerungen, sowohl in mesangialen Bereichen als auch geringe Mengen von IgG und Fibrin in Kapillarschlingen. MICHAEL et al. (1966) fanden in glomerulären Schlingen unterbrochene lineare Muster mit C3, und bei MEADOW (1978) wurden diese Ablagerungen mit IgG gefunden. Extraglomerulär enthielten in 2 Fällen kleinere Gefäße vor allem IgG und C3.

Den klinischen Angaben nach bestand in 2 Fällen eine chronische GN und in 2 Fällen eine isolierte Mikrohämaturie bzw. ungeklärte Erythrozyturie, renale Symptome, die differentialdiagnostisch an eine postakute

GN denken lassen (BOHLE et al. 1984). Abschließend betrachtet, ließ sich nicht mit Sicherheit auf einen Zustand nach postinfektiöser GN schließen, obwohl die immunhistologischen PAP-Befunde diese Möglichkeit wahrscheinlich machten.

In 5 Fällen lagen immunhistologische Befunde vor, die unterschiedliche Immunglobuline enthielten und nicht einer IgA-Nephritis oder postinfektiösen GN zugeordnet werden konnten. Solche Fälle werden bei GÄRTNER et al. (1978) als "Non-IgA-Nephritis" bezeichnet. Mesangiale Depots mit IgG, M und Fibrinogen fanden sich in 2 Fällen, mit IgG, A und M in einem Fall und mit IgG und IgM in einem weiteren Fall. In einer Biopsie ließen sich in den Mesangien nur IgM und geringgradig auch Fibrinogen nachweisen. C3-positive Depots mäßigen Grades waren ebenfalls in mesangialen Bereichen lokalisiert. Ob dieser vornehmlich mesangiale Befund mit IgM und C3 einer, von verschiedenen Autoren beschriebenen, sog. "IgM-Nephritis" entspricht, muß offen bleiben (COHEN et al. 1978; LAWLER et al. 1980; Van de PUTTE et al. 1974).

In den anderen 5 Fällen war Komplement C3 in geringem Ausmaß regelmäßig in mesangialen Bereichen vorhanden. Kapillarschlingen enthielten in 4 Fällen Anfärbungen mit IgG (2x), IgA (1x), IgM (2x), Fibrinogen (4x) und C3 (3x). Histologisch lag in 4 Fällen eine mäßiggradige und in einem Fall eine geringgradige mesangioproliferative GN vor. Dabei entsprachen die hier in 5 Fällen erhobenen Befunde weitgehend denjenigen, die mit der PAP-Methode unter 4.2.1. beschrieben und dort bereits diskutiert worden sind, so daß auf eine nochmalige Diskussion an dieser Stelle verzichtet werden kann. Schließlich lagen noch 2 Fälle vor, bei denen der PAP-Befund unklar blieb. In einem dieser Fälle bestand ein alleiniger Immunglobulin-Befund mit IgG und IgM mesangial, ohne Komplementnachweis. MÜLLER-EBERHARDT (1974) beschrieb zwar in einer geringen Anzahl seiner Fälle von

Glomerulonephritis das Vorkommen von Immunglobulinen ohne Komplementfaktoren, doch bleiben solche Befunde hinsichtlich ihrer pathogenetischen Relevanz fragwürdig.

Ein weiterer Fall zeigte IgA und C3-Depots in peripheren Kapillarschlingen ohne mesangiale Beteiligung. Auch diese Beobachtung muß hinsichtlich ihrer Relevanz fragwürdig bleiben.

Insgesamt war damit bei 14 positiven PAP-Befunden von MsPGN in 3 Fällen eine IgA-Nephritis, in 4 Fällen ein Zustand nach postinfektiöser GN und in 5 Fällen eine sog. Non-IgA-Nephritis innerhalb der mesangioproliferativen GN voneinander abgrenzbar. In 2 Fällen war eine schlüssige Interpretation der immunhistologischen Ergebnisse nicht möglich.

Ein Vergleich von PAP-Ergebnissen mit denjenigen der IMF in 29 Fällen von mesangioproliferativer GN zeigte hinsichtlich des immunhistologischen Befundes in 24 von 29 Fällen eine gute Übereinstimmung. Die Zusammensetzung der Immunglobuline ergab bei 20 positiven Fällen in 5 mit der PAP-Methode abweichende Ergebnisse, was vor allem durch den häufigeren Nachweis von IgG bedingt war. Die Intensität der Befunde in der PAP-Methode war für alle Immunglobuline und Komplementfaktoren geringer als bei der IMF. Ein Nachteil der PAP-Methode bestand bei fast allen Fällen in der schlechten Zuordnung der Depots zu intertubulären Arteriolen. Unspezifische Hintergrundanfärbungen traten in 2 Fällen von schlechter erhaltenem Material, sowie an den Rändern der Schnitte auf und wurden bei der Beurteilung entsprechend berücksichtigt bzw. ausgeklammert. Positive Anfärbungen in Kapillarlumina wurden vor allem bei dickeren Schnitten gesehen, was auch von SINCLAIR et al. (1981) beschrieben wurde.

Insgesamt betrachtet ergab sich eine zufriedenstellende Korrelation der beiden Methoden. Die PAP-Befunde waren

den Ergebnissen der IMF gut vergleichbar, ohne daß sich aber in der Mehrzahl der Fälle ein auffallender Vorteil der PAP-Methode erkennen ließ. Diese hier erhobenen Ergebnisse und abweichenden Befunde sind vorerst nicht mit PAP-Befunden anderer Autoren vergleichbar, da keine derartigen Untersuchungen zu diesen "Non-IgA-Nephritiden" zur Verfügung stehen (als "Non-IgA-Nephritis" bezeichnen GÄRTNER et al. (1978) mesangioproliferative GN, dies sich immunhistologisch nicht als IgA-Nephritis klassifizieren lassen).

Immunhistologische Studien mit der Immunfluoreszenztechnik liegen in großem Umfang vor, zeigen aber hinsichtlich der Immunglobulinzusammensetzung erhebliche Unterschiede (BHASIN et al. 1978; DAVISON et al. 1973; DISCHE und PARSONS 1977; GÄRTNER et al. 1978; HYMAN et al. 1973; JENIS und LOWENTHAL 1977; KINCAID-SMITH 1975; ROSEN 1983; THOENES W. 1979, 1982; WALDHERR et al. 1978). Bei anderen Autoren wurde keine klare Trennung dieser Gruppe von mesangioproliferativer GN von IgA-Nephritiden und Zuständen nach postakuten GN vorgenommen, was vielleicht auch nicht immer möglich und sinnvoll ist (BOHLE et al. 1976; MEADOW 1978; WILSON und DIXON 1974). Da vergleichbare Untersuchungen mit der PAP-Methode in der Literatur nicht vorliegen, ist eine abschließende Wertung und Gewichtung der hier erhobenen und mit der IMF verglichenen Ergebnisse noch nicht möglich.

Bei immunhistologisch noch nicht untersuchtem Biopsiematerial konnten mit der PAP-Methode verschiedene, nur immunhistologisch zu trennende Gruppen wahrscheinlich gemacht werden. IgA-Nephritiden, Zustände nach postinfektiöser GN und sog. "Non-IgA-Nephritiden" konnten damit bei Paraffinmaterial in der Gruppe von mesangioproliferativer GN voneinander unterschieden werden. Der große Vorteil der PAP-Methode liegt somit in der Möglichkeit, auch retrospektiv Anhaltspunkte über die genaue Klassifikation und Pathogenese einer Glomerulonephritis zu erhalten.

4.3. IgA-Nephritis

4.3.1. Vergleich der PAP-Befunde mit den IMF-Befunden

Die PAP-Ergebnisse zeigten in 13 von 31 Fällen mit der IMF übereinstimmende Befunde im Sinne einer IgA-Nephritis. Abweichungen ergaben sich in der Ausprägung der IgA-Ablagerungen. Geringgradige PAP-Befunde in 4 Fällen imponierten in der IMF als mäßiggradig ausgeprägt. In 2 Fällen lagen die Verhältnisse umgekehrt und in einem Fall stimmten die Ergebnisse beider Methoden überein. Da die PAP-Ergebnisse jedoch auch bei gering ausgeprägten Befunden klar abgrenzbare mesangiale IgA-Depots zeigten, dürften diese Abweichungen nicht von Bedeutung sein. GÄRTNER et al. (1978, 1979) wiesen zudem darauf hin, daß der Ablagerungsort, nicht aber das Ausmaß von Fluoreszenzmustern, eine Aussage über den morphologischen Schweregrad zulassen. Unterschiede im Ausmaß und der Intensität von Ablagerungen mit beiden Methoden wären nach diesen Beobachtungen kein Kriterium, um eine höhere Sensitivität von einer der beiden Methoden anzunehmen. Die IgA-Depots waren mit der PAP-Methode in allen 13 Fällen diffus und global verteilt und ein segmentales IgA-Muster, wie es bei der IMF in 3 Fällen vorlag, konnte nicht beobachtet werden. Diese PAP-Ergebnisse stehen damit in gutem Einklang mit IMF-Untersuchungen anderer Autoren und bestätigen einen diffus-globalen Befall der Glomerula bei der IgA-Nephritis (BERGER 1969; DAVIES et al. 1973; McENERY et al. 1973; GÄRTNER et al. 1978, 1979; GALVANEK 1983; JENIS und LOWENTHAL 1977; MOREL-MAROGER et al. 1972, 1973; SYRE 1983; THOENES G.H. 1973). Eine vergleichbare Studie von TUBBS und GEPHARDT (1983) mit der IMP-Methode fand ebenfalls eine diffus-globale Verteilung der IgA-Ablagerungen bei dieser Form von GN. Die mesangialen IgA-Ablagerungen waren mit der PAP-Methode in fast allen Fällen als fein- bis mittelgrobe, granuläre Depots abgrenzbar, und nur in 4 Fällen zeigten

sich mehr homogene und flächenhafte Ablagerungen. Diese Beobachtungen waren gut mit den IMF-Befunden zu vereinbaren, die in 9 Fällen abgrenzbare Depots und in 4 Fällen streifige, netzige Fluoreszenzen beschrieben. TUBBS und GEPHARDT (1983) fanden mit den IMP-Methoden ebenfalls ein granuläres IgA-Ablagerungsmuster vor und auch bei IMF-Studien wurde auf granuläre Fluoreszenzmuster hingewiesen (ALBINI et al. 1979; JENIS und LOWENTHAL 1977; SYRE 1983; WOODROFFE et al. 1980).

Periphere Kapillarschlingen enthielten in 4 Fällen fein granuläre IgA-Depots, die mit der IMF hingegen nur in einem Fall beschrieben waren.

Dieser unterschiedliche Befund mit beiden Methoden dürfte nicht wesentlich sein, da bei vergleichbaren IMF-Studien IgA-Depots in Kapillarschlingen einerseits eine häufigere Beobachtung sind (McCOY et al. 1974; RAMBAUSEK et al. 1983; ROSEN et al. 1981) und bei anderen Autoren wiederum völlig abwesend waren (GÄRTNER et al. 1979; SYRE 1983). Da auch bei den IMP-Untersuchungen von TUBBS und GEPHARDT (1983) keine Beteiligung der Kapillarschlingen mit IgA, wie auch mit allen anderen Immunglobulinen und Komplementfaktoren nachgewiesen werden konnte, muß die Bedeutung der hier vorliegenden Ergebnisse offen bleiben. Es sollte aber auch nicht übersehen werden, daß DYSART et al. (1983) bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen, bei denen sie die direkte Immunperoxidase-Methode anwandten, gelegentlich IgA-positive Depots in peripheren Kapillarschlingen nachweisen konnten. GALVANEK (1983) stellte heraus, daß elektronenmikroskopische Untersuchungen sehr unterschiedliche Ergebnisse hinsichtlich der Beteiligung von Kapillarschlingen aufweisen. Einheitliche Ergebnisse ließen sich bis jetzt demzufolge mit keiner der hier angeführten Methoden erbringen.

Neben IgA, das sich am intensivsten in mesangialen Bereichen darstellte, waren mit der PAP-Methode in ge-

ringem Ausmaß auch IgG (5x), IgM (5x) und Fibrinogen (5x) in den Mesangien nachweisbar. Verglichen mit den IMF-Befunden konnte mit der PAP-Methode bei positiven Fällen eine gute Korrelation hinsichtlich der Ablagerungen von IgG, M und Fibrinogen in den Mesangien erzielt werden. Lediglich Fibrinogen zeigte in 3 Fällen einen PAP-positiven und IMF-negativen Befund in den Mesangien. Mit beiden Methoden lagen IgA-Befunde nur in ungefähr der Hälfte von 13 Fällen zusammen mit IgG vor. Obwohl BERGER (1969) und mit ihm auch andere Autoren (JENIS und LOWENTHAL 1977; LOWANCE et al. 1973; MOREL-MAROGER et al. 1972, 1973; RAMBAUSEK et al. 1983; THOENES G.H. 1973), regelmäßig das Vorkommen von IgG-Depots bei IgA-Nephritis beschrieben, liegen andere Untersuchungen vor, die solche IgG-Ablagerungen nicht in dieser Häufigkeit vorfanden (DAVIES et al. 1973; GÄRTNER et al. 1978; HYMAN et al. 1973; SYRE 1983; WOODROFFE et al. 1980). Die hier vorliegenden Befunde dürften damit eher den letztgenannten entsprechen. Bezüglich der Anwesenheit von IgM und Fibrinogen in den Mesangien bei IgA-Nephritiden differieren vergleichbare IMF-Studien ebenfalls erheblich. BERGER (1969) und McENERY et al. (1973) konnten keine IgM-positiven Depots in den Mesangien nachweisen und TUBBS und GEPHARDT (1983) erhielten mit den IMP-Methoden ebenfalls keinen mesangialen Befund mit IgM. Übereinstimmend mit den hier vorliegenden IMF-Befunden und IMF-Untersuchungen von anderen Autoren (McCOY et al. 1974; GÄRTNER et al. 1978; GALVANEK 1983; JENIS und LOWENTHAL 1977; LOWANCE et al. 1973; ROSEN et al. 1981; SYRE 1983; WOODROFFE et al. 1980) konnten mit der PAP-Methode in einer geringen Anzahl von 5 Fällen, IgM-positive mesangiale Depots beobachtet werden, die jedoch in allen Fällen eine geringere Intensität als die IgA-Depots aufwiesen. Auch mit Fibrinogen ließen sich in 5 Fällen mit der PAP-Methode geringgradige mesangiale Ablagerungen nachweisen. Dies entsprach ebenfalls den hier vorliegen-

den IMF-Befunden, sowie Beobachtungen von anderen Autoren (MOREL-MAROGER et al. 1973; THOENES G.H. 1973). An peripheren Kapillarschlingen waren mit der PAP-Methode vereinzelt positive Ablagerungen mit IgG (2x), IgM (5x) und Fibrinogen (7x) abgrenzbar. In den entsprechenden IMF-Befunden fehlten dabei IgG- und Fibrinogen-positive Depots und IgM-positive Fluoreszenzen ließen sich nur in einem Fall nachweisen. Diese unterschiedliche Beteiligung der peripheren Kapillarschlingen bei beiden Methoden könnte einmal auf die untersuchten Glomerula zurückzuführen sein, die bei beiden Methoden nicht identisch waren. Ebenso wäre auch eine bessere Lokalisierbarkeit der feinen Granula in GBM-Strukturen mit der PAP-Methode denkbar. Ablagerungen von IgG, M und Fibrinogen in Kapillarschlingen sind bei IgA-Nephritiden ein gelegentliches Vorkommen (GÄRTNER et al. 1978; LOWANCE et al. 1973; SYRE 1983); GÄRTNER et al. (1978) beobachteten Ablagerungen entlang der glomerulären Kapillarwand häufiger bei morphologisch geringgradigen Veränderungen. Die PAP-Ergebnisse wären folglich mit diesen genannten Untersuchungen vergleichbar und mit der PAP-Methode wäre, zumindest in diesen Fällen von geringgradigen mesangio-proliferativen GN, eine Mitbeteiligung von peripheren Kapillarschlingen häufiger nachzuweisen gewesen. Mit dem Komplementfaktor C3 konnten nur in 2 Fällen geringgradige mesangiale Ablagerungen vorgefunden werden, während C4 gänzlich negativ war. Die bei diesen Fällen von IgA-Nephritis verwendeten Komplementfaktoren C3 und C4 wurden von den Behringwerken bezogen und nur bei diesen Biopsien eingesetzt, da sie sich als nicht spezifisch genug erwiesen. Leider stand kein Biopsiematerial mehr zur Verfügung, um C3 und C4 mit den üblicherweise von Dako verwendeten Antikörpern nachzuweisen. Ein Vergleich der C3/C4-Befunde bei beiden Methoden war durch diese methodische Unzulänglichkeit folglich nicht möglich.

In einem Fall lagen neben geringgradigen mesangialen IgA-Depots auch deutlich abgrenzbare, subendotheliale Ablagerungen bei der PAP-Methode vor. Der entsprechende IMF-Befund ließ in diesem Fall nur eine Beteiligung der Mesangien erkennen und ließ vergleichbare subendotheliale Depots vermissen. Da aber histologisch in einer Trichromfärbung subendotheliale Ablagerungen an der GBM zu erkennen waren, wurde der erhobene PAP-Befund als spezifisch erachtet.

Inwieweit diese Beobachtung derjenigen von HARA et al. (1980) entspricht, die bei IgA-Nephritiden subendotheliale Depots fanden und hinsichtlich ihrer IMF- und klinischen Befunde eine Beziehung zu den membranproliferativen GN annahmen, kann anhand von nur einer Beobachtung nicht entschieden werden. Ein Mischbild von IgA-Nephritis und membranöser GN, wie es von DOI et al. (1983) beschrieben wurde, war in keinem der hier bearbeiteten Fälle anzutreffen. Die in 13 von 31 Fällen positiven PAP-Befunde zeigten insgesamt betrachtet eine gute Übereinstimmung mit den IMF-Ergebnissen. Dies betraf die fast ausschließliche Lokalisation in den Mesangien, den diffusen und globalen Befall der Glomerula und den Nachweis von IgA, als dem am intensivsten und ausgeprägtesten darstellbaren Immunglobulin. Leichte Abweichungen ergaben sich in der Darstellung von IgG, M und Fibrinogen in mesangialen Bereichen und in der häufigeren Beteiligung von peripheren Kapillarschlingen bei den PAP-Befunden. Die C3- und C4-Befunde der IMF waren, aus den genannten methodischen Schwierigkeiten, einem Vergleich nicht zugänglich und mußten unberücksichtigt bleiben.

In 31 Fällen von IgA-Nephritis konnten vergleichbare Ergebnisse mit der PAP-Methode nur in den dargestellten 13 Fällen erhoben werden. Die restlichen 18 Fälle zeigten mit der PAP-Methode keine Befunde, die die An-

nahme einer IgA-Nephritis hätten rechtfertigen können. Dabei ergab sich in einem Fall ein als unspezifisch zu wertender PAP- Befund, der mit allen Reagenzien starke Ablagerungen intraluminal, sowie in GBM-Strukturen aufwies, so daß eine genaue Lokalisation nicht möglich war. Ursächlich dürfte dieser Befund auf eine zu große Schnittdichte zurückzuführen sein; so haben CURRAN und GREGORY (1980) und SINCLAIR et al. (1981) ebenfalls in Abhängigkeit von der Dicke der Schnitte nicht zu interpretierenden Ergebnisse erhalten. Bei 7 weiteren Fällen konnten mit der PAP-Methode lediglich grenzwertige Minimalbefunde erzielt werden, die alle geringfügige IgA-positive Granula in einigen Glomerula erkennen ließen. Die IMF zeigte dabei in 3 Fällen einen geringgradigen mesangialen IgA- Befund und in weiteren 4 Fällen das typische Bild einer IgA-Nephritis. In der Mehrzahl der Fälle (5x) waren bei der IMF keine Depots abgrenzbar und die Mesangien durch faserige, netzige Fluoreszenzen dargestellt. Diese Art des Fluoreszenzmusters bei IgA-Nephritiden wurde auch von GALVANEK (1983) und THOENES G.H. (1973) beschrieben und scheint mit der PAP-Methode nicht reproduzierbar zu sein. Dabei ergab sich bei allen Fällen der Eindruck, daß gerade in mesangialen Bereichen geringgradige und nicht-granuläre Ablagerungen möglicherweise durch die Gegenfärbung mit Meyers-Hämalaun überdeckt wurden und sich damit der Nachweisbarkeit entzogen. Diese Beobachtung, daß eine Gegenfärbung vor allem geringfügige Ablagerungen nicht mehr sichtbar werden läßt, machten bereits MILLER (1972) und SINCLAIR et al. (1981) in ihren Untersuchungen. MILLER (1972) begegnete diesem Problem, in dem er die angefertigten Präparate vor einer Gegenfärbung begutachtete, was in Zukunft wohl beachtet werden muß. Daneben weisen einige Untersuchungen darauf hin, daß durch viele Einflüsse bei der Verarbeitung von Paraffinmaterial, wie z.B. Konzentration und Art des Fixierungsmittels und zu lange Fixierungszeiten, Antigene zerstört

werden (BOENISCH 1980; BOSMAN und KRUSEMAN 1979; BOSMAN et al. 1977; MEPHAM 1982; MURPHY et al. 1973; TUBBS et al. 1981). Retrospektiv sind derartige Einflüsse an Routinematerial kaum mehr auszumachen, und es muß dahingestellt bleiben, ob die Antigene bei korrekter Verarbeitung nachweisbar gewesen wären. Die gleiche Problematik fand sich bei weiteren 10 Fällen, die einen negativen glomerulären PAP-Befund zeigten. Gegen einen technischen Fehler bzw. fehlerhaften Testablauf sprach, daß in allen Fällen IgG- und IgA-positive tubuläre Zylinder und vereinzelte Depots in Tubuluszellen vorkamen. Diese Befunde können nach McIVER und MEPHAM (1982) als Kontrolle für eine positive Reaktion dienen. Eine Hintergrundfärbung konnte ebenfalls bei keinem Fall beobachtet werden, so daß auch eine inadäquate Pronasebehandlung oder Antikörperkonzentration nicht in Betracht kommen dürfte (DENK et al. 1977; McIVER und MEPHAM 1982; KEMENY 1984; SINCLAIR et al. 1981). Die IMF-Befunde zeigten dabei in 6 von 10 Fällen nur geringgradig ausgeprägte IgA-Nephritiden. In 8 von 10 Fällen wiederum waren keine einzelnen Depots abgrenzbar, sondern die Mesangien durch flächenhafte, streifige Fluoreszenzen angefärbt. Ein weiterer Nachteil war bei den PAP-Befunden, daß in 5 von 10 Fällen nur zwei Glomerula für eine Beurteilung zur Verfügung standen. Auch bei diesen Fällen herrschte der Eindruck vor, daß die Gegenfärbung etwaige Ablagerungen der Nachweisbarkeit entzog. Wie schon angeführt, wurde diese Beobachtung auch von anderen Autoren gemacht (MILLER 1972; SINCLAIR et al. 1981), allerdings steht sie im Widerspruch zu der Ansicht der meisten früheren Untersucher, die durch eine Gegenfärbung mit Meyers-Hämalaun eine durchwegs bessere Lokalisierbarkeit von Immunglobulinen und Komplementfaktoren erzielen konnten (CLYNE et al. 1973; DENK et al. 1977; ELIAS und MILLER 1975; KEMENY 1984; SHEIBANI et al. 1981; TUBBS et al. 1980; TURNER et al. 1979).

In über der Hälfte der Fälle von IgA-Nephritis (18 von 31) konnte mit der PAP-Methode kein mit der IMF vergleichbares Ergebnis erzielt werden. Dies bedeutet aber zugleich, daß die PAP-Methode bei dieser Form von GN keine konstanten Resultate aufzuweisen vermochte und damit hinsichtlich einer verlässlichen, immunhistologischen Diagnosestellung der IMF-Methode weit unterlegen war. Es zeichnete sich dabei ab, daß vornehmlich geringgradige, immunhistologische Befunde mit der PAP-Methode nicht zu erfassen waren. Möglicherweise könnte eine Begutachtung der Präparate vor der Gegenfärbung mit Meyers-Hämalaun, die beobachteten Schwierigkeiten bei der Identifizierung von mehr flächenhaften, netzartigen Ablagemustern überwinden und die Ergebnisse verbessern. Desweiteren bleibt abzuwarten, welche Resultate zu erzielen sind, wenn mehr Glomerula untersucht werden können, als in dem eigenen Biopsiematerial zur Verfügung standen. Die Anwendbarkeit der PAP-Methode bei IgA-Nephritiden ist, nach den hier vorliegenden Ergebnissen nicht geeignet diese Form von GN sicher zu diagnostizieren. Da in der Literatur keine vergleichbaren Untersuchungen der PAP-Methode zu dieser Form von GN vorliegen, die zu einem besseren PAP-Ergebnis geführt hätten, muß bis auf weiteres der IMF-Methode der Vorzug gegeben werden.

4.4. Intra- und extrakapillär-proliferative GN

4.4.1. Vergleich der PAP-Befunde mit den IMF-Befunden

Ein Übereinstimmendes Ergebnis lag in 2 von 10 Fällen vor, das hinsichtlich der Lokalisation und Ablagerungsform von Immunsustanzen ein vergleichbares immunhistologisches Bild aufwies.

Einer dieser beiden Fälle ergab mit der IMF ein stark positives, zweifelsfrei lineares Ablagerungsmuster entlang der Kapillarschlingen mit IgG und geringgradig auch mit C3 und C4 sowie entsprechende geringgradige Fluoreszenzmuster der tubulären Basalmembranen. Das immunhistologische Bild der IMF konnte sicher mit einer Antibasalmembran-GN im Rahmen eines Goodpasture-Syndroms vereinbart werden. Auch der PAP-Befund zeigte bei diesem Fall stark ausgeprägte IgG-positive Ablagerungen, die als linear bewertet werden konnten und den Ausprägungsgrad der IMF-Fluoreszenz erreichten. C3 und C4 waren allerdings glomerulär und IgG, C3 und C4 in bzw. an tubulären Basalmembranen nicht nachweisbar.

Da weitere Befunde für die immunhistologische Diagnose eines Goodpasture-Syndroms nicht zwingend erforderlich sind (ALBINI et al. 1979; GALLO 1970; JENIS und LOWENTHAL 1977) und der PAP-Befund ein "brilliant" lineares Ablagerungsmuster mit IgG zeigte, waren die fehlenden C3/C4-Befunde bzw. die tubulären Befunde für die immunhistologische Diagnosestellung nicht entscheidend. Bei dieser nekrotisierenden GN, die in einem noch sehr frühen Stadium der Erkrankung erfaßt war, konnte somit durch die Befunde der PAP-Methode der pathogenetisch zugrunde liegende Mechanismus mit Autoantikörpern gegen die glomeruläre Basalmembran definitiv erkannt und bewiesen werden.

Der zweite von 10 Fällen, der ebenfalls eine Übereinstimmung der Ergebnisse beider Methoden aufwies, zeigte in beiden Befunden ein mesangiales Ablagerungsmuster. Der

IMF-Befund ergab Ablagerungen in den Mesangien mit IgG, IgA und C3/C4, während der PAP- Befund IgG- und C3-positive Ablagerungen aufwies, die vermutlich am ehesten in den Mesangien lokalisiert waren. Dieser Fall einer histologisch diffusen, schweren intra- und extrakapillär-proliferativen GN, war der einzige unter 10 Fällen, bei dem der PAP-Befund ein mesangiales Ablagerungsmuster vermuten ließ. Verglichen mit den IMF-Ergebnissen anderer Autoren kann diese Beobachtung nicht eingeordnet werden:

MEADOW (1978), WILSON und DIXON (1974) und ZOLLINGER und MIHATSCH (1978) unterschieden bei dieser GN-Form zwischen einem linearen und granulärem Ablagerungsmuster der Immunsustanzen, ohne eine Lokalisation der granulären Depots an(zu)geben (zu können). BOHLE et al. (1984), DISCHE und PARSONS (1977), MOREL-MAROGER (1972, 1973), STILMANT (1983) fanden granuläre Ablagerungen in unterschiedlicher Häufigkeit einmal entlang der glomerulären Kapillarwand und zum anderen in den Mesangien. Einheitliche Befunde scheinen demnach bei dieser Form von GN, vor allem hinsichtlich der Lokalisation der Ablagerungen, auch bei den genannten IMF-Studien nicht vorzuliegen.

Abweichende Ergebnisse der beiden Methoden ergaben sich in der überwiegenden Anzahl von 8 der 10 Fälle.

Von den PAP-Befunden ausgehend, zeigten sich in diesen 8 Fällen folgende abweichende Ergebnisse zu den IMF-Befunden:

a) In 4 von 8 Fällen ergaben sich an den stark alterierten Glomerula mit der PAP-Methode ausgeprägte Befunde, neben negativen Befunden an geringer geschädigten und völlig verödeten Nierenkörperchen. Die Unterschiede zu den IMF-Befunden betrafen in diesen 4 Fällen sowohl die Kombination, das Ausmaß, als auch die Lokalisation der einzelnen Immunglobuline und Komplementfaktoren.

Die PAP-Befunde zeigten dabei in einem von 4 Fällen star-

ke IgG-, IgM-, Fibrinogen- und C3-positive Ablagerungen, der IMF-Befund hingegen nur geringgradige, mesangiale C3-Depots. In einem zweiten der 4 Fälle lagen PAP-Befunde mit IgG und IgM, in dem IMF-Befund eine mesangiale Fluoreszenz mit IgG und C3 vor. Ein dritter Fall ergab mit der PAP-Methode IgG-, IgM- und Fibrinogen-positive, mit der IMF mesangiale IgA- und C3-positive Fluoreszenzen, und ein vierter Fall zeigte einen stark IgM- und Fibrinogen-positiven PAP-Befund, bei einem negativen IMF-Ergebnis.

Damit war IgA mit der PAP-Methode überhaupt nicht darstellbar und Ablagerungen mit IgM und Fibrinogen dagegen regelmäßig vorhanden.

Die IgG- und C3-positiven IMF-Befunde bei der intra- und extrakapillär-proliferativen GN sind mit den Beobachtungen von BOHLE et al. (1984) und ZOLLINGER und MIHATSCH (1978) vergleichbar, die IgG-, IgM- und Fibrinogen-Befunde der PAP-Befunde hingegen mit den Untersuchungen von DISCHE und PARSONS (1977), MOREL-MAROGER et al. (1972) und WILSON und DIXON (1974).

Wie aus dieser Gegenüberstellung hervorgeht, lassen sich einerseits unterschiedliche Kombinationen von abgelagerten Immunsustanzen bei einer RPGN finden, andererseits muß es jedoch offen bleiben, welche Bedeutung den, von den IMF-Befunden abweichenden Ergebnissen der PAP-Methode tatsächlich zuzumessen ist.

Neben diesen Unterschieden in der Zusammensetzung der Immunsustanzen, kamen noch solche im Ausmaß der Ablagerungen hinzu, was vor allem in einem Fall mit negativem IMF-Befund offensichtlich war. Welche Faktoren, abgesehen von unterschiedlich erfaßten Glomerula, die stark positiven PAP-Befunde mit IgM und Fibrinogen, bei fehlendem Nachweis mit der IMF bedingten und welche Interpretation dieser Beobachtung zukommen soll, kann mangels vergleichbarer Erfahrungen mit der PAP-Methode nicht ausgemacht werden. Die von McIVER und MEPHAM (1982), TUBBS

und GEPHARDT (1983) vorgelegten Ergebnisse mit der PAP-Methode betreffen nur die RPGN vom Typ der Antibasalmembran-GN. BARIETY und DRUET (1971) stellten diese Form von GN mit der konjugierten PO-Methode dar, zeigten aber keinen Vergleich zu IMF-Befunden auf.

Schließlich lagen in diesen 4 Fällen noch erhebliche Unterschiede in der Lokalisierbarkeit der Ablagerungen vor. Abgesehen von einem negativen IMF-Befund, waren alle beobachteten Fluoreszenzen mit der IMF in mesangiale Bereiche zu lokalisieren. Die PAP-Befunde konnten eine derartige mesangiale Lokalisation nicht nachvollziehen. Dies kann einerseits auf die starke Ausprägung der Ablagerungen zurückgeführt werden; andererseits lagen histologisch in allen 4 Fällen ausgedehnte Schlingennekrosen vor, wodurch eine sichere Unterscheidung und Abgrenzung mesangialer Bereiche von den glomerulären Kapillarschlingen nicht mehr möglich war. Diese Beobachtungen stehen im Gegensatz zu BOHLE et al. (1984), DISCHE und PARSONS (1977), MOREL-MAROGER et al. (1972) und STILMANT (1983), denen eine Zuordnung zu den genannten glomerulären Strukturen möglich war.

b) In 2 von 8 Fällen lagen negative IMF-Befunde bei IgM- und Fibrinogen-positiven PAP-Befunden vor.

Die Ablagerungen waren in einem Fall in den Halbmonden, in dem anderen Fall zusätzlich auch in den Bowman's Kapselepithelien lokalisiert. Fibrinogenablagerungen im Bereich des Bowman's Kapselraumes, vor allem aber in frischeren Halbmonden waren bei BOHLE et al. (1984), GÄRTNER et al. (1978), MEADOW (1978), MOREL-MAROGER et al. (1973) und WARDLE (1974) übereinstimmende und meist konstante Befunde, die mit den hier erhobenen PAP-Befunden vergleichbar sind.

Abweichend von BOHLE et al. (1984), DISCHE und PARSONS (1977) und GÄRTNER et al. (1978), die Immunglobuline im Bereich der Halbmonde nicht nachwiesen, lagen in den PAP-Befunden derartige Ablagerungen mit IgM in den zwei

eigenen Fällen vor.

Auch bei diesen beiden Fällen mit doch erheblich voneinander abweichenden Ergebnissen, muß eine Deutung aus den oben genannten Gründen unterbleiben.

c) Schließlich lagen unter den 8 Fällen auch 2 mit einem negativen PAP-Befund, aber positivem IMF-Ergebnis vor. Einer dieser IMF-Befunde zeigte IgG-, A- und C3-positive, relativ spärliche "Humps", die mit der PAP-Methode bei der Untersuchung von allerdings nur einem Glomerulum nicht dargestellt werden konnten.

In dem zweiten Fall war mit der PAP-Methode der relativ geringe Befund der IMF vom linearen Typ mit IgG, M und C3/C4 nicht nachvollziehbar. Der IMF-Befund ließ bei der gutachterlichen Wertung an einem Goodpasture-Syndrom keinen Zweifel. Allerdings entsprachen auch die morphologischen Veränderungen einer histologisch mäßiggradigen mesangioproliferativen GN nicht dem typischen Bild bei einem Goodpasture-Syndrom.

Die negativen PAP-Befunde betrafen somit in beiden Fällen jeweils nur geringgradige IMF-Ergebnisse, und bezogen sich zudem nur auf spärliches restliches Untersuchungsmaterial.

Die PAP-Befunde bei intra- und extrakapillär-proliferativen GN zeigten ein breites Spektrum an immunhistologischen Veränderungen und sehr starke Abweichungen von den IMF-Befunden. Eine Korrelation ist, wenn überhaupt, nur in sehr geringem Umfang anzunehmen.

Es war dabei nicht möglich eine Wertung in "bessere/schlechtere" Darstellbarkeit mit einer der beiden Methoden zu treffen. Die PAP-Ergebnisse schienen, vor allem unter Berücksichtigung der histologischen Befunde durchaus glaubwürdige und realistische immunhistologische Bilder wiederzugeben, so daß die Möglichkeit etwaiger unspezifischer Anfärbungen verneint werden mußte.

Die dargestellten Abweichungen zu den hier vorliegenden

IMF-Befunden, wie auch zu den IMF-Untersuchungen anderer Autoren, konnten leider nicht hinreichend mit den PAP-Ergebnissen von McIVER und MEPHAM (1982) und TUBBS und GEPHARDT (1983) verglichen werden. Die bei diesen Autoren dargestellten Fälle von RPGN bezogen sich ausschließlich auf den Typ der Antibasalmembran-GN, bei der sie, wie in einem Fall, gute Ergebnisse mit linearen Ablagerungsmustern erzielen konnten.

Eine Beurteilung und Wertung der hier beschriebenen PAP-Ergebnisse dürfte somit zum jetzigen Zeitpunkt nicht möglich sein, und es bleibt abzuwarten, welche Erfahrungen sich mit der PAP-Methode bei weiteren Untersuchungen ergeben werden.

4.5. Proliferativ-sklerosierende GN

4.5.1. Vergleich der PAP-Befunde mit den IMF-Befunden

Bei einem Fall war es möglich den erhobenen PAP-Befund mit demjenigen der IMF zu vergleichen. Beide Methoden wiesen IgM-positive Depots von mittelgradiger Intensität nach, doch waren diese mit der IMF nicht genauer lokalisierbar. Mit Hilfe der PAP-Methode konnte deren Lokalisation im Mesangium aufgezeigt werden.

Abweichend von der IMF fanden sich in den PAP-Befunden neben IgM auch IgG, C3 und vor allem Fibrinogen sowohl in mesangialen Bereichen, als auch in den Kapillarschlingen, eine Beobachtung, die denjenigen von ZOLLINGER und MIHATSCH (1978) bei dieser Form von GN entspricht.

4.5.2. Vergleich der PAP-Befunde mit den histologischen Befunden

Biopsiematerial, das erstmals immunmorphologisch mittels der PAP-Methode bearbeitet werden konnte, zeigte in einem von 4 Fällen ein völlig negatives, in den drei übrigen Fällen jedoch ein positives Resultat mit IgM, Fibrinogen und C3 in mesangialen Bereichen und in den Kapillarschlingen. Die Ablagerungen fanden sich dabei nur in weniger alterierten Glomerula, was mit den IMF-Untersuchungen von VELOSA et al. (1976) übereinstimmte.

Abschließend läßt sich zu dieser GN-Form feststellen, daß ein Vergleich der beiden Methoden nur in einem Fall möglich ist, wobei sich herausstellte, daß durch die PAP-Methode eine genauere Lokalisierbarkeit von Immunglobulinen möglich ist.

Die anderen vier Fälle von proliferativ-sklerosierender GN zeigten zwar konstante Befunde mit IgM, Fibrinogen und C3 in den Mesangien und Kapillarschlingen, doch werden derartige Ablagerungen in stark alterierten Glomerula als unspezifisch angesehen (VELOSA et al. 1976). Im-

munhistologische Befunde, die eine genaue Einordnung der GN-Form zugelassen hätten, lagen demnach nicht vor. Bei derartig schweren glomerulären Veränderungen trugen somit, Übereinstimmend mit KINCAID-SMITH (1975), auch die immunhistologischen Befunde nicht zu einer Klärung der ursprünglichen Form der glomerulären Erkrankung bei.

4.6. Membranoproliferative GN

4.6.1. Vergleich der PAP-Ergebnisse mit den histologischen Befunden

Ein Übereinstimmendes Ergebnis mit beiden Methoden konnte nur in einem von 5 Fällen beobachtet werden. Die Befunde von beiden Methoden ließen dabei das immunhistologische Muster einer membranoproliferativen GN mit in erster Linie stark ausgeprägten, C3-positiven Ablagerungen entlang den peripheren Kapillarschlingen erkennen. Histologisch handelte es sich in diesem Fall um eine membranoproliferative GN vom Typ II, die auch durch den elektronenmikroskopischen Nachweis von intramembranösen Depots als sog. "Dense deposit disease" (nach THOENES W. (1982) MPGN, Typ II mit intramembranösen dichten Depots) bestätigt war. Die C3-Ablagerungen stellten dabei in beiden Methoden hinsichtlich ihrer Intensität und Prädominanz den immunhistologischen Hauptbefund dar, was in guter Übereinstimmung zu IMF-Befunden anderer Autoren steht (BOHLE et al. 1984; HABIB Und LEVY 1983; MEADOW 1978; ZOLLINGER und MIHATSCH 1978). Die Membranen waren dabei in der IMF stark konturiert und ohne abgrenzbare Depots dargestellt, während mit der PAP-Methode kontinuierliche, meist bandartige bzw. pseudolinéare und daneben auch granuläre C3-Depots in subendothelialen Bereichen nachgewiesen wurden. Die Beobachtung bei den PAP-Befunden läßt sich mit denjenigen von IMF-Studien gut in Einklang bringen (BOHLE et al. 1984; MEADOW 1978; SWAINSON et al. 1983) weicht aber ab von den IMF-Befunden von TUBBS und GEPHARDT (1983), die intramembranöse Depots abgrenzen konnten.

Übereinstimmend mit McDONALD (1973), JENIS und LOWENTHAL (1977), MEADOW (1978), SWAINSON et al. (1983) und abweichend von BOHLE et al. (1984), HABIB und LEVY (1983), ZOLLINGER und MIHATSCH (1978), ließen sich mit beiden Methoden keine Immunglobuline oder Komplementfaktoren

in mesangialen Bereichen nachweisen. Auch hinsichtlich der Anwesenheit von IgG und C4 in den peripheren Kapillarschlingen, zeigten die beiden Methoden ein übereinstimmendes Ergebnis. Die in den IMF-Befunden dargestellten, IgG-positiven "Humps", ließen sich mit der PAP-Methode nicht nachweisen. Der Vergleich der Ergebnisse von beiden Methoden ließ, unter den verschiedenen dargestellten Aspekten, eine sehr gute Korrelation erkennen. Allerdings ließ sich mit beiden Methoden nicht das typische immunhistologische Bild einer "Dense deposit disease" mit konstanten C3-positiven Ablagerungen in den Mesangien und entlang der glomerulären Basalmembranen (HABIB und LEVY, 1983), aufzeigen.

Eine Abweichung der Ergebnisse lag in 4 von 5 Fällen vor, die dabei derart war, daß sie die immunhistologische Diagnose beeinflusste. Im einzelnen betrachtet konnte die IMF in einem der 4 voneinander abweichenden Fälle einen positiven Befund vom membranoproliferativen Typ mit IgA, M und C3 erbringen. Der entsprechende PAP-Befund konnte nur Spuren von IgA, M und Fibrinogen in peripheren Kapillarschlingen nachweisen, während C3 gänzlich fehlte. Da die beiden Befunde auch hinsichtlich der Lokalisation sowie des Ausprägungsgrades erhebliche Unterschiede aufwiesen, konnte der PAP-Befund nicht als kennzeichnend für die histologisch gestellte Diagnose einer MPGN vom Typ I, gewertet werden.

Der fehlende Nachweis von Komplementfaktoren mit der PAP-Methode ist ein schon des öfteren angesprochenes (mesangioproliferative GN S.90, IgA-Nephritis S.99) und auch von anderen Autoren beschriebenes Problem (McIVER et al. 1979).

Ausschlaggebend für das unzureichende PAP-Ergebnis dürfte jedoch die sehr geringe Anzahl von nur zwei Glomerula, im Gegensatz zu elf Glomerula bei der IMF, gewesen sein. In 3 von 4 Fällen dagegen waren die IMF-Befunde nicht kennzeichnend für das Vorliegen einer membranopro-

liferativen GN, während mit der PAP-Methode befriedigende Ergebnisse erzielt wurden, die gut mit den histologischen Befunden zu vereinbaren waren. Die PAP-Befunde in 2 dieser Fälle zeigten geringgradige Ablagerungen von IgM und C3 bzw. IgG, M und C3, die in subendothelialen Bereichen lokalisiert waren und sich ausschließlich den peripheren Kapillarschlingen girlandenförmig anlagerten. In einem weiteren dieser Fälle waren sehr ausgeprägte IgG-positive, grob-granuläre Depots subendothelial in der Peripherie der glomerulären Kapillaren zu sehen. Mit IgM ergab sich ein ähnlicher, aber geringerer Befund, und C3 war an zwei Glomerula negativ, die allerdings völlig verödet waren. Histologisch lag in all diesen Fällen eine membranoproliferative GN, Typ I mit lobulärer Variante vor. Die PAP-Ergebnisse konnten damit in 3 Fällen, die in der IMF wenig charakteristisch verändert waren, typische immunhistologische Veränderungen für diese Form von GN aufzeigen, was gut mit den PAP-Ergebnissen anderer Autoren übereinstimmt (BOHLE et al. 1984; McIVER und MEPHAM 1982; TUBBS und GEPHARDT 1983; TURNER 1981).

4.6.2. Vergleich der PAP-Befunde mit den histologischen Befunden

Die PAP-Befunde in 3 Fällen, die eine IMF-Untersuchung vermissen ließen, ergaben in allen Fällen ein positives Resultat, das mit den histologischen Befunden gut vereinbar war. Ein grob-granuläres, girlandenförmiges Ablagerungsmuster mit IgM fand sich dabei in einem Fall in der Peripherie der Kapillarschlingen, bei dem sich zusätzlich IgA-positive Depots in geringem Umfang in den Mesangien zeigten. Ein entsprechender Komplementbefund ließ sich leider nicht erheben, was auf einen inkonstanten Nachweis dieser Faktoren mit der PAP-Methode zurückgeführt werden muß (Mc IVER und MEPHAM 1982; SINCLAIR et al. 1981). Da sich jedoch der sehr deutliche

und auch typische Befund der Immunglobuline an den peripheren Schlingen gut mit der histologischen Diagnose einer einfachen Form der MPGN, Typ I vereinbaren ließ, wurde der fehlende Komplementbefund nicht als so wesentlich erachtet, um aus immunhistologischer Sicht nicht die Diagnose einer membranoproliferativen GN stellen zu können. Ein ausgeprägter Befund mit IgM, C3 und C4 sowie geringer auch mit IgG in der Peripherie von glomerulären Kapillarschlingen, lag bei einem weiteren Fall vor, der histologisch das Bild einer membranoproliferativen GN, Typ I mit lobulärer Variante bot. Auffallend waren IgA- und IgM-positive Depots in den Bowman's Kapselepithelien, die sich allerdings nur in einigen Glomerula darstellten. Einzelne granuläre Depots kamen fast nicht zur Darstellung, da die Kapillarschlingen meistens sehr dick nachgezeichnet aussahen. Auch dieser Befund stand in guter Übereinstimmung mit den histologischen Veränderungen einer membranoproliferativen GN.

Die beschriebenen Befundmuster an den peripheren Kapillarschlingen dieser beiden Fälle von membranoproliferativer GN des Typ I, ließen keine Unterschiede zwischen der einfachen Form und der lobulären Variante erkennen, worauf schon in vergleichbaren IMF-Studien hingewiesen wurde (BOHLE et al. 1984; HABIB et al. 1973; KINCAID-SMITH 1975).

Im Vergleich zu den IMF-Ergebnissen anderer Autoren (HABIB und LEVY 1983; JENIS und LOWENTHAL 1977; KINCAID-SMITH 1975; MEADOW 1978; ZOLLINGER und MIHATSCH 1978) wie auch zu den Befunden entsprechender Untersuchungen mit der PAP-Methode (McIVER und MEPHAM 1982; TUBBS und GEPHARDT 1983; TURNER 1981) konnten demnach die hier mit der PAP-Methode untersuchten Fälle ein mit den genannten Arbeiten Übereinstimmendes und einheitliches Befundmuster bei der membranoproliferativen GN aufzeigen. Der letzte dieser 3 PAP-Befunde, bei fehlender IMF, zeigte geringgradige, grobe IgG-positive Granula

in subendothelialen Bereichen und auffallend diskontinuierliche, pseudolineare Ablagerungen mit IgA, IgM und C3 an der Innenseite der GBM von peripheren Kapillarschlingen. Nur mit IgA und C3 ließen sich dabei einzelne, sehr feine Granula abgrenzen.

Histologisch sprach der Befund für das Vorliegen einer MPGN mit dichten intramembranösen Depots (sog. "Dense deposit disease"), und das immunhistologische Befundmuster konnte diese Vermutung bestätigen. Damit ließ sich mit der PAP-Methode auch bei dem Typ II der membranoproliferativen GN ein mit IMF-Befunden anderer Autoren vergleichbarer und gut übereinstimmender immunhistologischer Befund erheben (BOHLE et al. 1982; DAVIS und CAVALLO 1976; HABIB und LEVY 1983; JENIS und LOWENTHAL 1977; MEADOW 1978; ZOLLINGER und MIHATSCH 1978).

Die Darstellung dieser 8 Fälle von membranoproliferativer GN mit der PAP-Methode ergab in fast allen Fällen (7x) ein befriedigendes Ergebnis, das sehr gut mit den Befunden von vergleichbaren IMF- und PAP-Untersuchungen anderer Autoren korrelierte. Mit den vorliegenden IMF-Befunden hingegen, ließ sich nur bei einem Fall eine sehr gute Korrelation erzielen. Die PAP-Befunde bei abweichenden Ergebnissen zeigten Überwiegend (3x) ein immunhistologisch typisches Ablagerungsmuster. Die nur in einem Fall beobachtete Abweichung zugunsten des IMF-Befundes war bei dem PAP-Befund dadurch erschwert, daß nur zwei Glomerula in dem Schnittmaterial vorlagen. Die Begrenztheit des Biopsiematerials ist dabei ein Problem, das in vielen der hier bearbeiteten Fälle einen limitierenden Faktor darstellte und nur bedingt einen Vergleich der beiden Methoden zuließ.

Neben dem inkonstanten Nachweis des Komplementfaktors C3 fiel auf, daß unter den Immunglobulinen IgM meist intensiver und ausgeprägter darstellbar war, als IgG, was in Widerspruch zu den meisten Beobachtungen steht,

die ein umgekehrtes Verhalten dieser beiden Immunglobuline fanden (BOHLE et al. 1984; HABIB und LEVY 1983; ZOLLINGER und MIHATSCH 1978).

Da jedoch eine unterschiedliche Nachweisbarkeit und Zusammensetzung der einzelnen Immunglobuline eine häufigere Beobachtung in Untersuchungen war, die die IMF- und IMP-Techniken miteinander verglichen (BERGROTH et al. 1980; HEYDERMAN 1979), muß der Stellenwert dieser Ergebnisse, offen bleiben.

Die dargestellten Ergebnisse der PAP-Methode bei der membranproliferativen GN ließen damit insgesamt betrachtet, durchaus den Schluß zu, daß eine immunhistologische Darstellung dieser Form von GN auch mit der PAP-Methode sehr gut gelingt. Ausführliche und detaillierte Ergebnisse mit der PAP-Methode bei membranproliferativen GN liegen in der Literatur bis jetzt nicht vor, so daß noch abzuwarten bleibt, welcher Stellenwert der PAP-Methode bei dieser Form von GN definitiv zukommt.

4.7. (Peri-) membranöse GN

4.7.1. Vergleich der PAP-Befunde mit de IMF-Befunden

Mit der PAP-Methode ließ sich in allen 8 Fällen von perimembranöser GN eine gute Korrelation zu den entsprechenden IMF-Befunden herstellen.

Zum einen waren die dargestellten Ablagerungen mit der PAP-Methode in allen Fällen mit der immunhistologischen Diagnose einer perimembranösen GN gut zu vereinbaren, und zum anderen wiesen die PAP-Ergebnisse auch hinsichtlich des Ausprägungsgrades und der Lokalisierbarkeit von Immunsustanzen eine gute Übereinstimmung zu den IMF-Befunden auf.

Ein typisches Ablagerungsmuster mit kontinuierlichen granulären, perl schnurartigen IgG-positiven Depots in subepithelialer Position, lag dabei in allen Fällen mit beiden Methoden gleichermaßen stark ausgeprägt vor. Diese für die perimembranöse GN charakteristischen Befunde, ließen sich dabei in den hier vorliegenden, verschiedenen Stadien (Stadium I: 3 Fälle; Stadium II: 2 Fälle; Stadium III: 2 Fälle; Stadium IV: ein Fall) in gleich starker Ausprägung und Intensität mit der PAP-Methode nachweisen. Ein geringgradigerer Befund in frühen bzw. späten Stadien mit IgG, wie des öfteren beschrieben, kam in den eigenen Fällen nicht zur Beobachtung (ALBINI et al. 1979; DISCHE und PARSONS 1977; HEPTINSTALL 1973; JENIS und LOWENTHAL 1977).

Neben IgG, als vorherrschendem Immunglobulin, kamen in allen Fällen Komplementfaktoren in geringgradiger Ausprägung zur Darstellung, was sowohl den vorliegenden IMF-Befunden, wie auch vergleichbaren IMF-Befunden anderer Autoren entsprach (ALBINI et al. 1979; BOHLE et al. 1984; DISCHE und PARSONS 1977; GÄRTNER et al. 1977, 1978; HEPTINSTALL 1973; MOREL-MAROGER et al. 1973; THOENES G.H. 1973; TÖRNROTH 1983; ZOLLINGER und MIHATSCH 1978).

Vergleichbare IMP-Ergebnisse bei der perimembranösen GN in Studien anderer Autoren zeigten ebenfalls regelmäßig IgG- und Komplementablagerungen und stimmen somit gut mit den hier erhobenen PAP-Befunden überein (BARIETY und DRUET 1971; DAVIES et al. 1977; DENK et al. 1977; TUBBS und GEPHARDT 1983; TURNER 1981).

Die Beobachtung von McIVER und MEPHAM (1982), TUBBS und GEPHARDT (1983) mit der PAP-Methode die subepitheliale Depots im Stadium I und II sowie intramembranöse Depots im Stadium III abgrenzten, konnte bei keinem Fall nachvollzogen werden, zumal die hier vorhandenen IgG-Ablagerungen auch zu ausgeprägt und dicht gelagert waren, um zwischen diesen beiden Lokalisationen genau differenzieren zu können. Hinsichtlich der Anwesenheit der Komplementfaktoren C3 und C4 zeigten sich mit den beiden Methoden unterschiedliche Kombinationen: In 5 von 8 Fällen zeigten die PAP-Befunde ein kombiniertes Vorliegen von C3 und C4, die IMF-Befunde hingegen isolierte C3-Fluoreszenzen (3x), isolierte C4-Anfärbungen (1x) und ein völliges Fehlen von Komplementfaktoren (1x). Es lagen dabei histologisch meist spätere Stadien (Stadium III: 2 Fälle, Stadium IV: ein Fall) vor.

In 2 von 8 Fällen ergaben die PAP-Befunde isolierte Ablagerungen von C3 bzw. C4, die IMF-Befunde hingegen beschrieben ein gemeinsames Vorliegen dieser Komplementfaktoren. Histologisch handelte es sich bei diesen beiden Fällen jeweils um frühe Stadien, d.h. ein Stadium I bzw. ein Stadium II der Erkrankung.

Nur in einem von 8 Fällen lag mit beiden Methoden ein isolierter C4-Befund vor. Die unterschiedlichen Komplementbefunde waren mit beiden Methoden nur geringgradig ausgeprägt, was auf Differenzen der beiden Methoden vornehmlich im Bereich geringgradiger Befunde hinweist (McIVER et al. 1979; TURNER et al. 1979).

Die immunhistologische Diagnose war in keinem Fall durch diese Abweichungen betroffen; wohl aber würde der kon-

stante Nachweis von C4-Ablagerungen mit der PAP-Methode die Aktivierung des Komplementsystems über den klassischen Weg voraussetzen (MÜLLER-EBERHARD 1974).

Ein konstanter C4-Nachweis, der in den hier vorliegenden Befunden in 7 von 8 Fällen erhoben wurde, ist in den meisten Untersuchungen nicht beobachtet worden (ALBINI et al. 1979; DISCHE und PARSONS 1977; GÄRTNER et al. 1977; HEPTINSTALL 1973; JENIS und LOWENTHAL 1977; TÖRNROTH 1983; ZOLLINGER und MIHATSCH 1978).

Andererseits konnten MICHAEL und McLEAN (1974) in ihren Fällen von perimembranöser GN ebenfalls regelmäßig und BERGER et al. (1974), MOSELEY und WHALEY (1980) in einem Teil ihrer Fälle C4-positive Ablagerungen nachweisen, so daß die hier erhobenen PAP-Befunde mit diesen Untersuchungen vergleichbar sind. Neben den dargestellten IgG- und Komplementbefunden beider Methoden lagen in einem Fall bei den PAP-Ergebnissen geringgradige IgA-positive, epimembranöse Ablagerungen vor, die in dem IMF-Befund nicht dargestellt waren. Diesem Befund dürfte wenig Bedeutung zuzumessen sein, da dergleichen IgA-positive Ablagerungen gelegentlich zu beobachten sind (MOREL-MAROGER et al. 1973; THOENES G.H. 1973; TÖRNROTH 1983; ZOLLINGER und MIHATSCH 1978).

In den IMF-Befunden nicht beschriebene, IgM-positive Ablagerungen, konnten in 3 Fällen mit der PAP-Methode beobachtet werden. In einem dieser Fälle lagen dabei noch vereinzelte Fibrinogen-positive Depots vor. IgM war in diesen 3 Fällen ausgesprochen fokal und segmental verteilt. Histologisch handelte es sich jeweils um spätere Stadien der Erkrankung (Stadium III: 2 Fälle, Stadium IV: ein Fall).

Solche fokal-segmentalen IgM-Befunde, meist in späten Stadien von perimembranöser GN, finden sich auch in den Beobachtungen anderer Untersuchungen (BOHLE et al. 1984; DISCHE und PARSONS 1977; GÄRTNER et al. 1977, 1978; JENIS und LOWENTHAL 1977; MOREL-MAROGER et al. 1973; TÖRNROTH 1983).

Geringgradige Fibrinogen-positive PAP-Befunde, die gleichfalls in den IMF-Befunden fehlten, lagen in 2 Fällen von perimembranöser GN des Stadiums I bzw. II vor. Auch derartige Beobachtungen konnten in vergleichbaren früheren IMF-Untersuchungen angetroffen werden, ohne daß ihnen jedoch eine besondere Bedeutung zugemessen wurde (GÄRTNER et al. 1977, 1978; THOENES G.H. 1973; ZOLLINGER und MIHATSCH 1978).

Insgesamt betrachtet stimmen damit die PAP-Ergebnisse von perimembranöser GN in allen 8 Fällen sehr gut mit den entsprechenden IMF-Befunden überein.

Die dargestellten Abweichungen in der Zusammensetzung der Komplementfaktoren C3 und C4 sowie das unterschiedliche Vorkommen von IgA, IgM und Fibrinogen kann als unwesentlich erachtet werden und beeinflusste in keinem Fall die immunhistologische Diagnosestellung.

4.7.2. Vergleich der PAP-Befunde mit den histologischen Befunden

Ein positiver PAP-Befund vom perimembranösen Typ konnte in 2 Fällen erhoben werden, die bis dahin immunhistologisch nicht untersucht worden waren.

In beiden Fällen lag histologisch ein Stadium II einer perimembranösen GN vor und den klinischen Angaben zufolge, bestand ein nephrotisches Syndrom unklarer Genese. Als immunhistologischer Hauptbefund stellten sich in beiden Fällen ausgeprägte, granuläre, IgG-positive Depots an der Außenseite der glomerulären Kapillarwand dar, die diffus und global verteilt waren. Ein vergleichbarer, jedoch sehr viel geringer ausgeprägter Befund, ließ sich mit C3 und C4 erheben. Diese sehr zarten Ablagerungen boten dabei sehr häufig den Aspekt von pseudolinearen Anfärbungen, und die Identifizierung von Granula gelang erst unter stärkerer Vergrößerung mit dem Ölimmersionsobjektiv. Die Unterscheidung von pseudolinearen und granulären Ablagerungen, wie auch die genaue Lokalisation an

den glomerulären Basalmembranen war bei der perimembranösen GN vor allem dann erschwert, wenn die Depots feingranulär dicht nebeneinander abgelagert und nur geringgradig ausgeprägt waren. Bei den Untersuchungen von DAVIES et al. (1973) und TUBBS und GEPHARDT (1983) mit der IMP-Methode zeigten sich ähnlich gelagerte Probleme, und eine Differenzierung war auch bei ihnen erst durch eine, üblicherweise nicht unbedingt nötige, starke Vergrößerung (100-fach, Ölimmersion) möglich.

Die histologische Diagnose einer perimembranösen GN ließ sich somit immunhistologisch in beiden Fällen mit der PAP-Methode in vollem Umfang bestätigen, wobei die PAP-Befunde gut mit den gängigen IMF-Ergebnissen bei dieser Form von GN korrelierten (BOHLE et al. 1984; DISCHE und PARSONS 1977; MOREL-MAROGER et al. 1973; THOENES G.H. 1973; TÖRNROTH 1983; ZOLLINGER und MIHATSCH 1978).

Die Ergebnisse der PAP-Methode konnten in allen hier bearbeiteten Fällen sowohl mit den IMF-Befunden (8x), als auch mit den histologischen Veränderungen (2x) ein übereinstimmendes und konstantes Resultat aufweisen, so daß der Einsatz dieser Methode bei der perimembranösen GN gerechtfertigt erscheint.

Die Verwendung der Ölimmersion erwies sich zur Differenzierung von pseudolinearen und granulären Ablagerungen, wie auch zur genauen Lokalisation von Depots als unumgänglich. Störende Hintergrundanfärbungen traten in diesem Biopsiematerial nicht auf, und alle Ablagerungen konnten den einzelnen glomerulären Strukturen gut zugeordnet werden.

Durch die PAP-Methode ergibt sich damit die Möglichkeit, eine perimembranöse GN immunhistologisch an Paraffinmaterial zuverlässig darzustellen, was vor allem auch für retrospektive Untersuchungen von großer Bedeutung ist.

4.8. Fokal-segmental sklerosierende GN

4.8.1. Vergleich der PAP-Befunde mit den IMF-Befunden

Ein Übereinstimmendes Ergebnis mit beiden Methoden lag in nur 3 von 11 Fällen vor, doch waren die Ablagerungen der PAP-Befunde geringgradiger, als diejenigen der IMF, ausgeprägt. Auch waren in diesen 3 Fällen, die bei der IMF vorliegenden C3- und C4-positiven Ablagerungen nicht nachvollziehbar, so daß eine insgesamt hinlängliche Korrelation der beiden Methoden anzunehmen war.

In einem weiteren Fall ergab der PAP-Befund lediglich minimale C4-positive Ablagerungen in segmental verödeten Kapillarschlingen, was einerseits nicht mit dem fokal-segmentalen, IgG-, IgM- und C3-positiven IMF-Befund korrelierte und andererseits auch nicht mit den IgM- und C3-positiven IMF-Ergebnissen anderer Autoren vergleichbar war (ANDRES 1978; BOHLE et al. 1984; GÄRTNER et al. 1978; TURNER und ROSEN 1983; WHITHWORTH et al. 1978; ZOLLINGER und MIHATSCH 1978).

Ein Minimalbefund mit IgM in segmental verödeten Schlingenanteilen lag in einem Fall vor und konnte nicht mit dem IgG-, IgM-, C3/C4-positiven, endomembranösen Befund der IMF korreliert werden.

Bei einem weiteren Fall mit negativem IMF-Befund zeigten sich geringgradige, mesangiale IgG-positive Ablagerungen in den PAP-Befunden, die jedoch nicht mit der histologischen Diagnose einer fokal-segmental sklerosierenden GN zu vereinbaren waren (BERGER et al. 1971; McGOVERN und LAUER 1973).

Die PAP-Ergebnisse konnten somit in 6 von 11 Fällen lediglich Minimalbefunde aufzeigen, die zudem einen positiven Nachweis der Komplementfaktoren vermissen ließen. Der inkonstante Nachweis von Komplementfaktoren mit dieser Methode wurde auch von McIVER et al. (1979) angegeben und muß bei diesen Fällen von fokal-segmental sklerosierender GN als Nachteil gewertet werden. Für den nur geringgradigen Nachweis der Immunglobuline bei den PAP-

Befunden käme nur ein Unterschied in den untersuchten Glomerula in Betracht, zumal für die IMF meistens mehr Nierenkörperchen zur Verfügung standen. Dieser Unterschied der Anzahl von Glomerula kam dabei vor allem bei den fokal-betonten Ergebnissen der IMF zum Tragen und ließ nur bedingt einen Vergleich der beiden Methoden zu. Eine ähnliche Problematik ergab sich in 5 Fällen, bei denen ein negativer Befund, bei positiven Ergebnissen der IMF mit fokalen und segmentalen Ablagerungen, vorlag. Diese Fälle enthielten nur mehr ein Glomerulum, das in verschiedenen Schnittstufen keinerlei Ablagerungen von Immunsustanzen aufzeigte. Lichtmikroskopisch (minimale Proliferation von Mesangiumzellen), wie auch elektronenmikroskopisch (Schwellung der Glomerulumdeckzellen, Fußfortsätze retrahiert) handelt es sich bei den fokal-segmental (betonten) GN um eine grundsätzlich diffuse Nierenerkrankung (BOHLE et al. 1984), immunhistologisch sind dagegen Immunglobulin- und Komplementablagerungen nur in den fokalen Skleroseherden nachweisbar (BOHLE et al. 1984). Die negativen PAP-Befunde in einem normal erscheinenden Glomerulum können somit nicht als repräsentativ für die glomerulären Veränderungen in diesen 5 Fällen angesehen werden.

4.8.2. Vergleich der PAP-Ergebnisse mit den histologischen Befunden

Die PAP-Ergebnisse in 3 Fällen, in denen ein entsprechender IMF-Befund fehlte, zeigten in 2 Fällen einen positiven IgM-Befund in segmentaler Verteilung, ließen aber ebenfalls die bei dieser Form von GN anzutreffenden C3-Ablagerungen vermissen (JENIS und LOWENTHAL 1977; TURNER und ROSEN 1983).

Hinsichtlich der IgM-Ablagerungen war in diesen beiden Fällen der immunhistologische Befund mit der histologischen Diagnose einer fortgeschrittenen bzw. mäßiggradigen fokal-segmental sklerosierenden GN zu vereinbaren. Vergleichbare Ergebnisse mit IMP-Methoden bei dieser

Form von GN liegen von TUBBS und GEPHARDT (1983) vor, die IgM und C3 in fokal-segmentaler Verteilung in sklerosierten Schlingensegmenten fanden. Ein negativer PAP-Befund lag in dem dritten Fall einer histologisch gesicherten Fokalen Sklerose vor und konnte somit keinen Beitrag aus immunhistologischer Sicht leisten.

Die Befunde der PAP-Methode zeigten, wie im einzelnen dargestellt, insgesamt unbefriedigende Ergebnisse, sowohl bei einem Vergleich mit den immunfluoreszenzmikroskopischen, als auch mit den histologischen Befunden. Ursächlich mag die geringe Anzahl der zur Verfügung stehenden Glomerula eine Rolle gespielt haben, doch zeigten sich auch in anderen Fällen, ohne diesen Nachteil, ebenfalls negative und minimale Ergebnisse. Diese PAP-Befunde wurden jedoch an lichtmikroskopisch unauffälligen Glomerula, ohne segmental sklerosierte Schlingenanteile erhoben. Die bei dieser Form von GN histologisch unveränderten Glomerula lassen auch immunmorphologisch keine Veränderungen erkennen (BOHLE et al. 1984; TURNER und ROSEN 1983), so daß die unbefriedigenden PAP-Ergebnisse im wesentlichen auf das Fehlen von segmental sklerosierten Glomerula zurückzuführen sind. Da bei dieser Form von GN vergleichbare IMP-Ergebnisse nur von TUBBS und GEBHARDT (1983) vorliegen, die derartige Probleme mit den IMP-Methoden nicht aufzeigten, muß die Wertigkeit der PAP-Methode bei der immunhistologischen Darstellung der fokal-segmental sklerosierenden GN, nach den vorliegenden Ergebnissen, fraglich bleiben. An den vorliegenden 14 Fällen zumindest konnten konstante und verlässliche Ergebnisse nicht aufgezeigt werden, so daß der Immunfluoreszenz bis auf weiteres der Vorzug gegeben werden sollte. Allerdings sollte die fokal-segmental sklerosierende GN einer nochmaligen Prüfung mit der PAP-Methode zugeführt werden, wenn ausreichendes Biopsiematerial mit Anschnitten von segmental sklerosierten Glomerula zur Verfügung steht.

4.9. Schönlein-Henoch-Syndrom

4.9.1. Vergleich der PAP-Befunde mit den IMF-Befunden

Der Vergleich der mit der PAP-Methode erhobenen Befunde mit denjenigen der Immunfluoreszenz ergab folgende Ergebnisse:

Bei den als negativ beschriebenen PAP-Befunden in 5 Biopsien erwies sich beim Vergleich ein Befund mit der IMF als übereinstimmend, da sie ebenfalls ein negativ immunhistologisches Resultat aufwies.

In 3 Fällen zeigte die IMF geringgradig positive Anfärbungen fast ausschließlich mit IgA, wobei mit der PAP-Methode jedoch kein vergleichbares Ergebnis erzielt werden konnte, ebenso in einem weiteren Fall, wobei aber mit der IMF ein eindeutiger, mäßiggradiger Befund mit IgA vorlag.

Bei den beschriebenen positiven Ergebnissen mit der PAP-Methode in 5, dem Vergleich zugänglichen Biopsien, konnte in 4 Fällen eine gute, in einem jedoch nur eine hinlängliche Korrelation mit der IMF erhoben werden. Die gute Korrelation betraf dabei sowohl die An- bzw. Abwesenheit der vorgefundenen Immunglobulinarten, als auch deren Lokalisation, wobei in 2 Fällen (einmal mit IgM, das anderemal mit Fibrinogen) mit der PAP-Methode eine wesentlich stärkere Intensität vorgefunden wurde. Ebenfalls in 2 Fällen konnten mesangiale Depots mit IgM nachgewiesen werden, die bei der IMF nur in GBM-Bereichen aufzufinden waren

Als Grund der hinlänglichen Korrelation eines PAP-Befundes wurde angesehen, daß mit der PAP-Methode bei sonst übereinstimmenden Ergebnissen, IgA nicht in der beschriebenen endokapillär-mesangialen Position aufzufinden war, was die immunhistologische Diagnose in Richtung mesangioproliferativer GN, ohne Anhalt für eine S-H-Nephritis, verändert hatte. Der konstante Nachweis von IgM mit der PAP-Methode, im Vergleich zur IMF, wirft die Frage nach

einer unspezifischen Anfärbung auf, schließt die erhobenen Befunde jedoch nicht zwingend aus, da es auch bei immunfluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen anderer Autoren, jedoch inkonstanter, zusammen mit IgG, IgA und C3 vorgefunden wird (HEATON et al. 1977; LEVY et al. 1976).

Insgesamt betrachtet, bestand in 5 von 10 bearbeiteten Fällen eine gute, in einem eine hinlängliche Übereinstimmung mit beiden Methoden. In 4 Fällen konnte mit der PAP-Methode kein vergleichbarer Befund erhoben werden. Es handelte sich in diesen Fällen um histologisch geringgradige glomeruläre Veränderungen und IMF-histologisch in 3 Fällen um geringgradige, sowie in einem Fall um mäßiggradige Ablagerungen, die mit der PAP-Methode nicht erfaßt werden konnten.

3.9.2. Vergleich der PAP-Befunde mit den histologischen Befunden

Die Anwendung der PAP-Methode bei einem Fall von Schönlein-Henoch-Nephritis ohne vorliegende IMF, ergab gering- bis mäßiggradige Ablagerungen in den Mesangien, weniger ausgeprägt auch subendothelial, sowie in intertubulären Arteriolen (mit IgG und C3). An Immunglobulinen ließen sich IgG und IgA, in geringerer Intensität auch IgM, Fibrinogen und C3 nachweisen. Für alle Immunglobuline bestand eine diffuse, jedoch segmental akzentuierte Verteilung. Unter Berücksichtigung des lichtmikroskopischen Befundes mit segmentaler Verbreiterung des Mesangiums, sowie endothelialen Zellproliferationen, wäre der immunhistologische PAP-Befund gut mit einer Schönlein-Henoch-Nephritis vereinbar.

Die Anwendung der PAP-Methode bei 11 Nierenbiopsien mit Schönlein-Henoch-Nephritis ergab bei kritischer Beurteilung nur eine Übereinstimmung der PAP-Befunde mit den IMF-Befunden in 6 von 10 Fällen. Ursächlich kommen für

dieses unzureichende Resultat, vor allem das negative PAP-Ergebnis bei geringgradigen immunhistologischen Veränderungen in Frage. Bei näherem Hinsehen könnte für diese Abweichung, zumindest in 3 Fällen, schlecht erhaltenes und aufgearbeitetes Biopsiematerial eine ursächliche Rolle gespielt haben (BOSMANN et al. 1977; MEPHAM 1982).

Betrachtet man hingegen die immunhistologischen Resultate bei den positiven PAP-Befunden, so ergab sich sowohl hinsichtlich der Lokalisation, als auch der Verteilung der einzelnen Immunglobulinarten und der Färbeintensität ein durchaus gut mit den vorliegenden IMF-Befunden übereinstimmendes Ergebnis.

Abweichend von den bei TUBBS und GEPHARDT (1983) erhobenen Befunden bei Schönlein-Henoch assoziierter GN, womit der Immunperoxidase-Technik IgG, IgA und C3 granulär mesangial und subendothelial in diffuser, globaler Verteilung gefunden wurde, ergab die vorliegende Untersuchung zusätzlich auch IgM- und Fibrinogen-positive Depots in vornehmlich mesangialen Bereichen, was sowohl mit den eigenen IMF-Befunden, als auch mit den Befunden in der Literatur übereinstimmt (FILLASTRE et al. 1971; URIZAR und HERDMAN 1970).

4.10. Systemischer Lupus Erythematoses

4.10.1. Vergleich der PAP-Befunde mit den IMF-Befunden

Ein Übereinstimmendes Ergebnis mit beiden Methoden wurde in 8 von 14 Fällen erzielt und zeigte im einzelnen folgende, miteinander zu korrelierende, IMF- und PAP-Befunde:

In einem dieser 8 Fälle lag ein negativer immunhistologischer Befund mit beiden Methoden vor. Dieser negative Befund mit der PAP-Methode bei einer lichtmikroskopisch minimalen Lupusnephritis war einerseits mit einem eben solchen der IMF zu korrelieren, doch ergaben die IMF-Untersuchungen von BOHLE et al. (1984) bei minimalen Lupusnephritiden mesangiale Ablagerungen, die jedoch isoliert, und häufig nur diskret in den Mesangien nachweisbar waren, so daß mit beiden Methoden offenbar ein derartiger geringgradiger Befund nicht darstellbar ist. Anders als bei der PAP-Methode, war dies der einzig vorliegende negative IMF-Befund bei einer minimalen Lupusnephritis. Ein rein auf die Mesangien begrenzter Befund wurde in einem von 8 Fällen mit beiden Methoden erhoben, so daß sich eine gute Übereinstimmung des PAP-Befundes hinsichtlich der Lokalisation von Immunsustanzen ergab. Eine identische Lokalisation von Immunsustanzen mit beiden Methoden konnten auch DUJOVNE et al. (1972) aufzeigen, allerdings mit einer IMP-Technik, die mit Peroxidase konjugierten Antikörpern arbeitet. Die bei der IMF anwesenden Immunglobuline IgG, IgA und IgM konnten bei dem PAP-Befund ebenfalls stark ausgeprägt nachgewiesen werden, und auch die bei der IMF beschriebene Prädominanz von IgM war nachvollziehbar. Die auffallend schwachen C3-Befunde sowie die deutlichen C4-Befunde der IMF, konnten mit der PAP-Methode nicht erhoben werden. In diesem Fall einer histologisch minimalen Lupusnephritis ließ sich somit eine Übereinstimmung in der Lokalisation und der Anwesenheit von Immunglobulinen erzie-

len, nicht jedoch ein vergleichbarer Befund der Komplementfaktoren. Dieser Fall einer histologisch minimalen Lupusnephritis war desweiteren der einzige, bei dem mit der PAP-Methode ein positiver Befund an minimal veränderten Glomerula zu erzielen war.

Ein Übereinstimmender Befund mit mesangialen und zusätzlichen perimembranösen Depots wurde in 3 von 8 Fällen angetroffen. Diese, in beiden Untersuchungsmethoden, feinen Depots an der Außenseite der GBM, waren mit der PAP-Methode abweichend von dem IMF-Befund, auch mit IgM (3x) und Fibrinogen (1x), allerdings stärker ausgeprägt auch subendothelial, positiv darstellbar. Allerdings fehlten bei den PAP-Befunden die, bei der IMF in einem Fall darstellbaren, C3/C4-positiven perimembranösen Depots. Der Fibrinogen-positive PAP-Befund weicht zwar von den IMF-Untersuchungen anderer Autoren ab, doch fanden sich auch bei ihnen keine einheitlichen Ergebnisse: KOFFLER et al. (1969) konnten Fibrinogen überhaupt nicht nachweisen, DUJOVNE et al. (1972) nicht in subepithelialer Position, MIESCHER et al. (1976) nur entlang der Basalmembran ohne genaue Lokalisationsangabe, und PARONETTO und KOFFLER (1965) fanden diffuse, Fibrinogen-positive, membranöse Ablagerungen.

Insgesamt ließ sich in diesen 3 Fällen einer gering proliferativen Lupusnephritis (1x) und schweren diffus proliferativen Lupusnephritis (2x) eine gute Korrelation mit beiden Methoden erzielen, die besonders die Lokalisierbarkeit der Immunsubstanzen betraf.

Bei weiteren 2 von 8 Fällen lag mit beiden Methoden ein ausgeprägter immunhistologischer Befund vor, der das typisch bunte Ablagerungsmuster bei einer histologisch schweren, diffus proliferativen Lupusnephritis in beiden Fällen zeigte. Die mesangialen Ablagerungen waren mit der PAP-Methode in einem Fall, im Vergleich zur IMF, zusätzlich mit Fibrinogen positiv, und in dem zweiten Fall konnten die geringgradigen IgA-, IgM- und C3-positi-

tiven mesangialen Befunde der IMF nicht vorgefunden werden. An den glomerulären Basalmembranen fanden sich, übereinstimmend mit den IMF-Befunden, sowohl an der Außenseite, als auch an der Innenseite erhebliche Ablagerungen, die übereinstimmend IgG-positiv waren. Abweichend von dem IMF-Befund zeigten sich in beiden Fällen in den PAP-Befunden derartige Depots auch mit IgM und Fibrinogen, sowie in einem Fall mit C3.

Auch in diesen beiden Fällen ergab sich mit beiden Methoden eine gute Korrelation hinsichtlich der Lokalisation von Immunsustanzen und eine weniger gute bezüglich der Zusammensetzung von Immunglobulinen und Komplementfaktoren.

Ein positiver Befund vom perimembranösen Typ lag mit beiden Methoden in einem von 8 Fällen vor. Die sehr dicken, und z.T. auch konfluierenden Granula waren dabei mit der PAP-Methode stark IgM-positiv darstellbar, während der IMF-Befund noch zusätzliche IgG positive Granula aufwies. Auch waren bei dem PAP-Befund die interstitiellen, rundlichen IgG- und IgM-positiven Depots der IMF nachvollziehbar, nicht jedoch diejenigen mit C3. Dies war gleichzeitig der einzige Fall von Lupusnephritis, bei dem mit der PAP-Methode eine interstitielle Beteiligung nachgewiesen werden konnte. Histologisch handelte es sich um eine schwere, diffus proliferative Lupusnephritis, bei der spikeartige Protuberanzen noch nicht ausgebildet waren.

Die übereinstimmenden immunhistologischen Ergebnisse mit beiden Methoden sprachen somit für eine perimembranöse Ablagerungsform bei diesem Fall von Lupusnephritis. Abweichende Ergebnisse mit beiden Methoden, im Sinne eines negativen PAP-Befundes bei positiver IMF, zeigten sich in 6 von 14 Fällen. In 2 dieser 6 Fälle lagen geringgradige, rein mesangiale IMF-Befunde vor, die mit der PAP-Methode nicht darzustellen waren. Histologisch

bestand in einem Fall eine minimale Lupusnephritis und in dem anderen Fall eine diffus proliferative Lupusnephritis. Die anderen 4 negativen PAP-Befunde wiesen im Vergleich deutlich positive Befunde der IMF auf, die rein mesangiale Ablagerungen (1x) und zusätzlich auch endokapilläre (2x) und perimembranöse (1x) Depots aufzeigen konnten. Welche Faktoren diese negativen PAP-Befunde bei doch deutlich ausgeprägten IMF-Befunden bedingten, ist unklar. Fehler in der technischen Durchführung sind auszuschließen, da im gleichen Arbeitsgang untersuchte bzw. bearbeitete Schnitte technisch einwandfrei waren. Auch eine zu geringe Glomerulumanzahl konnte in diesen Fällen nicht für die mangelhaften Ergebnisse verantwortlich gemacht werden. Lichtmikroskopisch lagen in diesen 6 Fällen 4 Fälle von minimaler Lupusnephritis und 2 Fälle von diffus proliferativer Lupusnephritis vor, die mit der PAP-Methode immunhistologisch nicht darstellbar waren.

Der Vergleich der PAP-Befunde mit denjenigen der IMF ergab in fast der Hälfte der Fälle (6 von 14) von Lupusnephritis einen fehlenden immunhistologischen Befund mit der PAP-Methode und somit eine insgesamt unzureichende Korrelation. Die Mehrzahl der negativen Ergebnisse (4 von 6) betrafen dabei Fälle einer nur minimalen Lupusnephritis. Da jedoch die IMF-Befunde eindeutig positiv waren und vergleichbare IMF-Ergebnisse in anderen Fällen von Lupusnephritis durchaus gut mit der PAP-Methode darstellbar waren, müssen die möglichen Ursachen dieser fehlenden Nachweisbarkeit mit der PAP-Methode offen bleiben. Diese offensichtliche Inkonstanz der PAP-Befunde in einigen Fällen von Lupusnephritis, die nicht nur die Komplementfaktoren, sondern auch den Immunglobulinnachweis betraf, muß als entscheidender Nachteil dieser Methode gewertet werden.

Bei einem Vergleich der positiven PAP-Befunde (7x) mit denjenigen der IMF, fielen in einigen Fällen Fibrino-

gen-positive Ablagerungen auf, die bei den IMF-Befunden fehlten. Fibrinogen-Ablagerungen wurden von einigen Autoren sowohl in mesangialen Bereichen, wie auch in Kapillarschlingen in einem Teil ihrer Fälle ebenfalls beobachtet (ANDRES et al. 1970; MIESCHER et al. 1976; PARONETTO und KOFFLER 1965), in den Untersuchungen von JENIS und LOWENTHAL (1977), KOFFLER et al. (1969) fehlten sie gänzlich. DUJOVNE et al. (1972) fanden Fibrinogen nicht in subepithelialen Bereichen, sondern nur subendothelial abgelagert, und bei SILVA (1983) war Fibrinogen nur in Halbmondbildungen nachweisbar. Bei den Fibrinogen-Befunden liegen somit, je nach Studie, unterschiedliche Ergebnisse vor, was auch auf die hier dargestellten Fällen zutrifft. Die Kapillarschlingen zeigten mit der PAP-Methode desweiteren relativ häufiger IgM-positive Ablagerungen, was jedoch gut mit dem immunhistologischen Bild einer Lupusnephritis zu vereinbaren war (ANDRES et al. 1970; KOFFLER et al. 1969; PARONETTO und KOFFLER 1965). Im Gegensatz zu einigen IMF-Befunden waren die für eine renale Manifestation des SLE typischen peritubulären und perivaskulären Immunkomplexablagerungen (BOHLE et al. 1984; BRENTJES et al. 1975) bei den PAP-Befunden nicht sicher voneinander abgrenzbar. Die in der Regel bei Lupusnephritiden zu beobachtenden C3- und C4-positiven Ablagerungen (CHRISTIAN 1969; ROTHFIELD et al. 1972) waren mit der PAP-Methode nur inkonstant nachweisbar.

Eine ausgesprochen gute Korrelation zeigte sich jedoch in der Lokalisierbarkeit der glomerulären Ablagerungen mit beiden Methoden, so daß die positiven PAP-Befunde in dieser Beziehung mit der IMF durchaus vergleichbar waren, worauf auch DUJOVNE et al. (1972) bei einem Vergleich von IMP-Methoden mit der IMF hinwiesen. Insgesamt betrachtet zeigten die PAP-Befunde, wenn positiv, eine gute Übereinstimmung mit den IMF-Befunden, doch konnten leider keine konstanten Resultate erzielt werden.

4.11. DISKUSSION der PAP-ERGEBNISSE in einer zusammenfassenden und abschließenden Beurteilung aller in der Arbeit untersuchten GN-Formen

In einer abschließenden Diskussion werden die PAP-Ergebnisse der verschiedenen GN-Formen zusammengefaßt und mit den IMF- und histologischen Befunden verglichen.

Die in erster Linie interessierende Korrelation der immunhistologischen Ergebnisse der PAP-Methode im Vergleich zu denjenigen der Immunfluoreszenztechnik ergab bei den einzelnen Formen von GN unterschiedliche Resultate, die von einer sehr guten bis nur hinlänglichen oder ungenügenden Übereinstimmung der PAP-Ergebnisse mit den IMF-Befunden reichten.

Eine als sehr gut zu bezeichnende Korrelation ergab sich bei der perimembranösen GN, die in 8 der 8 Fälle (entsprechend 100%) übereinstimmende Ergebnisse mit beiden Methoden aufwies.

Bei der exsudativ-proliferativen GN (9 von 12 Fällen, entsprechend 75%), der mesangial-/endokapillär-proliferativen GN (24 von 29 Fällen, entsprechend 83%) und der proliferativ-sklerosierenden GN (ein von einem Fall) zeigte sich eine gute Übereinstimmung der Befunde, allerdings ergaben sich bei beiden erstgenannten GN-Formen in einem geringen Teil der Fälle auch nicht übereinstimmende Befunde, weshalb die Korrelation der beiden Methoden nicht mehr als sehr gut zu bezeichnen ist. Die Ergebnisse der beiden Methoden bei der proliferativ-sklerosierenden GN sind anhand nur eines vergleichbaren Falles nicht abschließend beurteilbar, doch weisen die PAP-Ergebnisse in 4 Fällen, die nicht mit der IMF untersucht waren, auf gute Ergebnisse der PAP-Methode auch bei dieser Form von GN hin.

Eine nur sehr geringe Korrelation der Befunde beider Methoden wurde bei der intra- und extrakapillär-proliferativen GN (2 von 10 Fällen, entsprechend 20%) und der

membranoproliferativen GN (ein von 5 Fällen, entsprechend 20%) vorgefunden. Dies beruht bei der intra- und extrakapillär-proliferativen GN auf stark voneinander abweichenden immunhistologischen Befunden beider Methoden. Die lichtmikroskopischen Befunde zeigten dabei in diesen Fällen ausgeprägte Schädigungen der Glomerula, bis hin zu ausgedehnten Schlingennekrosen. Ablagerungen ließen sich mit der PAP-Methode in diesen geschädigten glomerulären Strukturen lokalisieren (vor allem IgM und C3), während in frischen Schlingennekrosen ausgedehnte Ablagerungen von Fibrinogen nachweisbar waren. Die PAP-Ergebnisse waren damit, vor allem unter Berücksichtigung dieser histologischen Befunde, mit den Befunden einer intra- und extrakapillär proliferativen GN gut vereinbar. Aufgrund der eigenen Erfahrungen scheint die Anwendung der PAP-Methode für eine immunhistologische Diagnosestellung bei der intra- und extrakapillär-proliferativen GN durchaus geeignet und sinnvoll, auch wenn im Augenblick die Relevanz der dabei beobachteten immunmorphologischen Veränderungen noch einer weiterführenden Klärung bedarf. Die direkte Übereinstimmung der beiden Methoden bei nur 20% der Fälle sollte somit zunächst nicht als Nachteil aufgefaßt werden. Vielmehr ist zu überprüfen, welche Bedeutung den Befunden der PAP-Methode zukommt. Die immunhistologische Darstellung der membranoproliferativen GN mit der PAP-Methode wies Ergebnisse auf, die den Einsatz dieser Methode, sowohl alternativ, als auch ergänzend zu etwaigen unklaren IMF-Befunden, durchaus rechtfertigt. Die oben angegebene Korrelation von nur 20% bei der membranoproliferativen GN war durch solche Fälle bedingt, die einerseits wenig charakteristische IMF-Befunde aufwiesen, andererseits ein positives PAP-Ergebnis ergaben, welches mit dem histologischen Bild einer MPGN gut übereinstimmte. In 4 von 5 Fällen (entsprechend 80%) standen die PAP-

Befunde somit in guter Übereinstimmung mit den licht-mikroskopischen Befunden einer MPGN.

Eine Übereinstimmung der immunhistologischen Befunde beider Methoden in etwas mehr als der Hälfte aller Fälle ergab sich bei den Lupusnephritiden (8 von 14 Fällen, entsprechend 57%) und den Glomerulonephritiden des Schönlein-Henoch-Syndroms (6 von 10 Fällen, entsprechend 60%). Bei den Lupusnephritiden zeichnete sich dabei die Tendenz ab, daß histologisch als minimal eingestufte und in den IMF-Befunden mit geringgradigen Ablagerungen in den Mesangien einhergehende glomeruläre Veränderungen mit der PAP-Methode nicht darstellbar sind. Bei Fällen einer minimalen Lupusnephritis ist die IMF offensichtlich der PAP-Methode deutlich überlegen, während die PAP-Methode bei der geringgradigen und schwer proliferativen Lupusnephritis durchaus hilfreich ist.

Ebenfalls mit der PAP-Methode nicht darstellbar waren licht- als auch immunfluoreszenzmikroskopisch geringgradige glomeruläre Veränderungen bei Fällen von Schönlein-Henoch-Nephritis. Die Interpretation von PAP-Befunden bei der Lupusnephritis und Schönlein-Henoch-Nephritis hat demnach zu berücksichtigen, daß nach den eigenen Erfahrungen geringfügige glomeruläre Veränderungen nicht erfaßt werden und somit mit einem falsch negativen PAP-Ergebnis einhergehen können.

Die schlechtesten Ergebnisse mit der PAP-Methode lagen bei der IgA-Nephritis und der fokal-segmental sklerosierenden GN (sog. "Fokale Sklerose") vor.

Eine Übereinstimmung mit den IMF-Befunden zeigte sich bei den IgA-Nephritiden in 13 der 31 Fälle (entsprechend 42%) und bei den fokal-segmental sklerosierenden GN in nur 3 der 11 Fälle (entsprechend 27%). Wie bei der Lupusnephritis und Schönlein-Henoch-Nephritis, so waren auch bei der IgA-Nephritis im wesentlichen die geringgradigen IMF-Befunde mit der PAP-Methode nicht konstant darstell- und erfaßbar. Da die IgA-Nephritis die häufigste Form unter

den Glomerulonephritiden darstellt (JENIS und LOWENTHAL 1977; RAMBAUSEK et al. 1983) und nur immunhistologisch gegen andere Formen von mesangioproliferativer GN abgegrenzt werden kann, ist das unzureichende Ergebnis mit der PAP-Methode bei dieser GN-Form besonders schwerwiegend zu beurteilen.

Auch bei der fokal-segmental sklerosierenden GN ist eine zuverlässige Diagnose mit der PAP-Methode nicht möglich gewesen. Bei diesen PAP-Befunden muß man jedoch berücksichtigen, daß eine Beurteilung in den meisten Fällen an nur wenigen Glomerula vorgenommen werden konnte, die zudem lichtmikroskopisch unverändert waren. Eine endgültige Bewertung der PAP-Methode bei dieser Form von GN steht demnach noch aus und sollte an einer größeren Biopsieserie abgeklärt werden.

Der Vergleich der PAP- mit den IMF-Befunden zeigte bei den verschiedenen Formen von GN die dargestellten und z.T. voneinander abweichenden Resultate. Konstante Ergebnisse mit der PAP-Methode sind nach den eigenen Erfahrungen bei der perimembranösen, exsudativ-proliferativen, mesangial-/endokapillär-proliferativen und der proliferativ-sklerosierenden Glomerulonephritis zu erwarten. Auch bei der intra- und extrakapillär-proliferativen und membranoproliferativen GN zeigt die Anwendung der PAP-Methode gute Ergebnisse, auch wenn der angegebene Wert der Übereinstimmung beider Methoden auf den ersten Blick dagegen spricht.

Für die immunmorphologische Darstellung der Lupusnephritis und Schönlein-Henoch-Nephritis erwies sich die PAP-Methode als nur eingeschränkt geeignet; minimale bzw. geringgradige glomeruläre Veränderungen konnten mit der IMF besser und konstanter als mit der PAP-Methode erfaßt werden. Durch die inkonstanten PAP-Ergebnisse bei der IgA-Nephritis und fokal-segmental sklerosierenden

GN war es mit der PAP-Methode nicht möglich, diese Formen von GN zuverlässig zu diagnostizieren; auf die Anwendung der IMF kann somit bis auf weiteres nicht verzichtet werden.

Hinsichtlich der Lokalisation der Immundepots waren die PAP-Befunde bei allen Formen von GN mit den IMF-Befunden vergleichbar. Lediglich bei einigen Fällen von exsudativ-proliferativer und membranoproliferativer GN ließen sich die, bei den IMF-Befunden dargestellten "Humps", in den PAP-Befunden nicht sicher abgrenzen und bei der IgA-Nephritis fiel eine häufigere Beteiligung von peripheren Kapillarschlingen mit der PAP-Methode auf.

Eine Abweichung in der Zusammensetzung von Immunglobulinen und Fibrinogen geringen Ausmaßes konnte bei fast allen GN-Formen, mit Ausnahme der IgA-Nephritis, beobachtet werden. Häufigere IgG-positive PAP-Befunde stellten sich bei der exsudativ-proliferativen und der mesangioproliferativen GN dar. IgM-positive Ablagerungen stellten sich mit der PAP-Methode häufiger bei der intra- und extrakapillär-proliferativen, der membranoproliferativen, der perimembranösen, der fokal-segmental sklerosierenden GN und der Schönlein-Henoch-Nephritis dar. Auch Fibrinogen wurde mit der PAP-Methode häufiger als mit der IMF nachgewiesen (iekGN, proliferativ-sklerosierende GN, PGN). Lediglich IgA war mit der PAP-Methode nicht häufiger nachweisbar, bzw. bei der IgA-Nephritis war IgA in einem Teil der Fälle völlig abwesend. Dieser Unterschied muß am ehesten auf eine zu geringe Spezifität des verwendeten Antikörpers zurückgeführt werden. Eine unterschiedliche Kombination von Immunglobulinen und Fibrinogen bei den einzelnen Formen von GN ist sowohl in IMF-Untersuchungen zu beobachten (siehe Diskussion zu den verschiedenen GN-Formen), als auch bei einem Vergleich der eigenen PAP-Befunde mit denjenigen von TUBBS und GEPHARDT (1983) aufgefallen. BERGROTH et al. (1980) und HEYDERMAN (1979) führen diese Abweichungen

zwischen verschiedenen IMF- und IMP- Untersuchungen auf einen Unterschied der eingesetzten Immunreagenzien zurück. Eine durch diesen Unterschied bedingte Änderung der immunhistologischen Diagnose wurde nicht beobachtet. Ein konstanter Nachweis der Komplementfaktoren C3 und C4 mit der PAP- Methode war nur bei der perimembranösen GN und der Schönlein-Henoch-Nephritis bzw. ein konstanter C3-Nachweis bei der exsudativ-proliferativen GN möglich. Inkonstante PAP-Ergebnisse mit C3 und C4 wurden auch in anderen Untersuchungen mit dieser Methode berichtet (DENK et al. 1981; McIVER et al. 1979). Dies stellt einen Nachteil der PAP-Methode dar, der auf der Anfälligkeit der Komplementfaktoren gegenüber der proteolytische Behandlung beruht und nach der eigenen Erfahrung auch nicht durch kürzere Inkubationszeiten behebbar war.

Geringgradige Komplementablagerungen, wie auch geringgradige Immunglobulin-Depots, können durch die Gegenfärbung mit Meyers-Hämalaun überdeckt werden (MILLER 1972; SINCLAIR et al. 1981; TUBBS und GEPHARDT 1983), und dadurch nicht mehr nachweisbar sein. Eine Beurteilung der Präparate vor der Gegenfärbung könnte diese Probleme, vor allem bei der minimalen IgA- und Lupusnephritis, umgehen.

Tubulo-interstitielle Ablagerungen und Depots in intertubulären Arteriolen konnten bei keiner Form von GN zuverlässig erkannt und voneinander abgegrenzt werden. Dies trifft nicht zu auf die Speicherung von Immunsubstanzen in Tubuluszellen, tubulären Zylindern bzw. Ablagerungen in Vasa afferentia/efferentia und größeren Gefäßen. Eindeutige interstitielle Depots wurden nur in einem Fall von Lupusnephritis beobachtet.

Diese Beobachtung steht damit im Gegensatz zu denjenigen von McIVER und MEPPHAM (1982) und MAGORI (1984), die extraglomeruläre Ablagerungen in ihren PAP-Untersuchungen gut lokalisieren konnten.

Bei der semiquantitativen Beurteilung des Ausmaßes der Ablagerungen von Immunsustanzen ergaben sich zwischen den IMF- und PAP-Befunden folgende Übereinstimmungen bzw. Unterschiede:

- a) Ein Übereinstimmendes Ergebnis mit beiden Methoden lag bei der exsudativ-proliferativen, proliferativ-sklerosierenden und perimembranösen GN vor.
- b) Bei der intra- und extrakapillär-proliferativen GN und membranoproliferativen GN wiesen die PAP-Befunde durchschnittlich ausgeprägtere Ablagerungen, als in den IMF-Befunden, auf.
- c) Eine geringere Ausprägung der PAP-Befunde wurde bei der MsPGN, IgA-Nephritis, fokal-segmental sklerosierenden GN, S-H-Nephritis und Lupusnephritis beobachtet. Die Ursachen für diese Unterschiede in der immunhistologischen Darstellbarkeit mit der PAP-Methode bei verschiedenen Formen von GN sind letztlich unklar. Neben einer nur geringen Anzahl beurteilbarer und auswertbarer Glomerula ist zu diskutieren, inwieweit Unterschiede in der Fixierungszeit, -art, -konzentration oder -temperatur einen Einfluß auf die Darstellbarkeit der Antigene haben (BOSMAN et al. 1977; CURRAN und GREGORY 1980; MEPHAM 1982; MILLER 1972). Retrospektiv konnten diese möglichen Störfaktoren nicht mehr exakt festgestellt werden. Neben dem Ausprägungsgrad der Ablagerungen ist vor allem auch deren Lokalisation in den Glomerula für eine immunhistologische Diagnose von Bedeutung (GÄRTNER et al. 1978). Zwar zeigte die PAP-Methode bei den unter c) aufgeführten GN-Formen durchschnittlich geringgradigere Ablagerungen, doch konnten diese hinsichtlich ihrer Lokalisation, Verteilung und Immunglobulinzusammensetzung durchaus mit den IMF-Befunden verglichen werden. Aus den dargestellten Unterschieden bei den verschiedenen Formen von GN ergeben sich darüber hinaus für zukünftige Untersuchungen mit der PAP-Methode Anhaltspunkte, bei welchen GN-Formen Abweichungen von der IMF bzw. geringere Färbereaktionen auftreten können.

Eine Übersicht der Korrelation der PAP-Befunde mit den IMF-Befunden bei den einzelnen Formen von GN zeigt Tabelle 24.

Ein Vergleich der erhobenen PAP-Ergebnisse mit bereits vorliegenden Untersuchungen ist nur sehr eingeschränkt möglich. Mit der PAP-Methode liegen Untersuchungen von DENK et al. (1977), McIVER und MEPHAM (1982), McIVER et al. (1979) und SINCLAIR et al. (1981) vor, die aber ihre Fälle von GN insgesamt vorstellten, ohne, wie in der vorgelegten Arbeit, eine Trennung der einzelnen GN-Formen vorzunehmen. Verglichen mit diesen Arbeiten (siehe Tab.25), ergab die eigene Untersuchung mit einer Übereinstimmung der PAP- mit den IMF-Befunden von rund 60%, (58,4%) ein insgesamt schlechteres Ergebnis. Da aus den genannten Gründen ein genauer Vergleich zwischen den eigenen Ergebnissen der einzelnen GN-Formen und den in der Literatur berichteten nicht möglich ist und das Biopsiegut z.T. auch sehr unterschiedlich ist (siehe Tab.25), kann das Ergebnis der eigenen Untersuchungen nur bedingt als schlechter eingestuft werden. Zudem fehlen in den früheren Untersuchungen genaue Angaben a) zu der Lokalisation der einzelnen Immunsustanzen, b) zu der Kombination der vorgefundenen Immunglobuline und Komplementfaktoren sowie c) zu deren Verteilung in den Glomerula. Aus diesen Gründen war bei der Besprechung der einzelnen GN-Formen meist nur ein Vergleich mit gängigen IMF-Untersuchungen möglich.

Die Untersuchung von TUBBS und GEPHARDT (1983) läßt sich hinsichtlich der Darstellung der PAP-Ergebnisse bei verschiedenen GN in Form einer tabellarischen Übersicht, sowie der genauen Angabe der Lokalisation, Verteilung und Aussehen der Immundepots, am ehesten mit der eigenen Arbeit vergleichen. Es fehlte jedoch die Angabe der untersuchten Anzahl von Fällen und eine semiquantitative Beurteilung der Ablagerungen. Die in dieser Studie dargestellten Ergebnisse bei der rapid

progressiven GN bezogen sich ausschließlich auf den Typ der Antibasalmembran-GN und die proliferativ-sklerosierende GN ist nicht berücksichtigt. Der wichtigste Unterschied zu der eigenen Arbeit bestand darin, daß nicht die Ergebnisse mit der PAP-Methode allein dargestellt sind, sondern die Resultate der verschiedenen IMP-Techniken (z.B. direkte und indirekte Immunperoxidase-Methode, PAP-Methode, Biotin-Avidin- und Protein A-Modifikation) insgesamt beurteilt sind. Wurden demnach in einigen Punkten bei der vorangegangenen Diskussion die Ergebnisse dieser Arbeit den eigenen PAP-Ergebnissen gegenübergestellt, so war dies mehr als Orientierung, denn als exakter Vergleich gedacht. Umfassende und ausführliche Erfahrungen und Ergebnisse mit der PAP-Methode liegen bei Glomerulonephritiden, und vor allem bei den verschiedenen Formen von GN bis jetzt noch nicht vor. Über weitere Untersuchungen, sowie die jeweilige IMP-Technik, informiert Tabelle 25.

Die Ergebnisse mit der PAP-Methode in 40 Fällen, die nicht immunhistologisch mit der IMF untersucht worden waren und damit auch nicht verglichen werden konnten, ergaben für alle untersuchten GN-Formen zufriedenstellende Resultate.

Die abgelagerten Immunglobuline und Komplementfaktoren, und vor allem die Lokalisation der Immunsubstanzen in den einzelnen glomerulären Strukturen, stehen bei allen untersuchten GN-Formen in guter Übereinstimmung mit den lichtmikroskopischen Veränderungen und der jeweiligen Diagnose.

Sehr konstante immunhistologische PAP-Ergebnisse liegen bei der exsudativ-proliferativen, der membranoproliferativen und perimembranösen GN vor. Bei diesen GN-Formen bestätigen sich demnach die guten PAP-Ergebnisse, die sich auch bei dem Biopsiematerial zeigten, das mit IMF-Befunden vergleichbar war (siehe S. 134, 135, 136).

Bei der mesangioproliferativen GN ermöglichten die PAP-Befunde eine genauere Subklassifizierung. Retrospektiv konnten Fälle von IgA-Nephritis, Non-IgA-Nephritis und exsudativ-proliferativer GN abgegrenzt werden, die lichtmikroskopisch nicht voneinander abgrenzbar sind. Neben diesen GN-Formen wurden auch negative und unspezifische immunhistologische PAP-Ergebnisse bei der mesangioproliferativen GN angetroffen, die sich vergleichbar auch in IMF-Untersuchungen finden (DISCHE und PARSONS 1977; GÄRTNER et al. 1978; THOENES W. 1979, 1982).

Bei der proliferativ-sklerosierenden GN ließen die PAP-Befunde, Übereinstimmend mit KINCAID-SMITH (1975), keine Aussagen über die zugrundeliegende GN-Form zu.

Fälle von fokal-segmental sklerosierender GN, bei denen ein IMF-Befund fehlte, wiesen bessere PAP-Ergebnisse auf, als diejenigen Fälle, die mit IMF-Befunden verglichen wurden (siehe S.137). Dieser Unterschied ist auf mehr Biopsiematerial mit segmental sklerosierten Glomerula zurückzuführen.

Das PAP-Ergebnis bei der S-H-Nephritis war zwar ebenfalls mit dem histologischen Befund vereinbar, doch bedarf es zur Frage der Anwendbarkeit der PAP-Methode bei dieser GN-Form noch weiterführender Untersuchungen.

Die immunhistologischen Ergebnisse bei diesen 40 Fällen, die mit der PAP-Methode untersucht und mit den lichtmikroskopischen Befunden verglichen wurden, zeigt Tabelle 26.

Zusammenfassend konnte anhand dieser Untersuchung von 268 menschlichen Nierenbiopsien die Anwendbarkeit der PAP-Methode für die Routinepathologie überprüft und im Vergleich zu der IMF bewertet werden. In 171 der 268 Biopsien war eine Begutachtung der PAP-Befunde möglich, während 97 der 268 Biopsien nur Anschnitte von Nierenmarkgewebe aufwiesen und damit immunhistologisch nicht beurteilbar waren. Daneben wurden auch viele Fälle mit in die Untersuchung einbezogen, die eine immunhistolo-

gische Bewertung nur noch an einigen wenigen Glomerula zuließen. Da nach ZOLLINGER und MIHATSCH (1978) eine sichere und repräsentative Beurteilung einer glomerulären Erkrankung erst möglich wird, wenn mindestens fünf Glomerula zur Verfügung stehen, stellen die PAP-Befunde, die an weniger als fünf Nierenkörperchen erhoben wurden, nur begrenzt aussagefähige Ergebnisse dar. Der Vergleich der IMF- mit den PAP-Befunden in 131 der 171 beurteilbaren Fälle zeigte bei den einzelnen GN-Formen Vorteile sowie Nachteile und offene Fragestellungen bei der Anwendung der PAP-Methode auf.

Unspezifische Hintergrundanfärbungen, die die Interpretation von PAP-Befunden erschweren können (BERGROTH et al. 1980; McIVER und MEPHAM 1982; KEMENY 1984; READING 1977; TAYLOR und BURNS 1974), traten in den eigenen Untersuchungen nicht bzw. nur gelegentlich an den Schnitträndern auf. Als Nachteil der PAP-Methode stellten sich a) falsch negative Befunde heraus, die bei geringgradigen und minimalen IMF-Befunden auftraten, und b) inkonstante Komplementbefunde. Die IMF-Methode erscheint auch in Zukunft nicht entbehrlich. Sie ist vor allem für die immunhistologische Erkennung von nur diskreten glomerulären Veränderungen geeigneter als die PAP-Methode.

Der langjährigen Erfahrung und der großen Anzahl von Untersuchungen, die mit der IMF-Methode zur immunhistologischen Charakterisierung von verschiedenen Glomerulonephritiden vorliegen, stehen darüberhinaus vergleichbar umfangreiche PAP-Untersuchungen nicht gegenüber. Ein weiterer Vergleich der beiden Methoden, der die Grenzen und Möglichkeiten der PAP-Methode vollständig ausschöpft, steht demzufolge noch aus. Angesichts der vielen Vorteile, die andererseits die PAP-Methode gegenüber der IMF-Methode hat, erscheinen weiterführende Untersuchungen mit dieser Methode, vor allem unter Berücksichtigung einer gesonderten Darstellung der verschiedenen GN-Formen wünschenswert und notwendig.

GN - FORM	ANZAHL DER VERGLEICH-BAREN FÄLLE	KORRELATION DER METHODEN: ANZAHL DER FÄLLE	AMPHIOBARKEIT DER PAP-METHODE	LOKALISATION VON GLOMERULAREN DEPOSITS PAP:IMF	NACHWEIS VON Ig UND FIBRINOGEN PAP:IMF	NACHWEIS VON C3/C4 MIT DER PAP	INTENSITÄT DER ABLAGERUNGEN
EXSUDATIV-PROLIFERATIVE GN	12	9 von 12 (75%)	GUT MÖGLICH	ÜBEREINSTIMMEND "HUMPS" MIT PAP NICHT SICHER ABGRENZBAR	Igg PAP/IMF	C3 - KONSTANT C4 INKONSTANT	ÜBEREINSTIMMEND
MESANGIOPROLIFERATIVE GN	29	24 von 29 (83%)	GUT MÖGLICH	ÜBEREINSTIMMEND	Igg PAP/IMF Igm IMF/PAP	C3 INKONSTANT C4 INKONSTANT	IMF/PAP
Iga - NEPHRITIS	31	13 von 31 (42%)	INKONSTANT	ÜBEREINSTIMMEND MIT PAP HÄUFIGER GEN-DEPOSITS	ÜBEREINSTIMMEND	C3 FELDEND** C4 FELDEND	IMF/PAP
INTRA-EXTRAKAPILLAR-PROLIFERATIVE GN	10	2 von 10 (20%)	GUT MÖGLICH*	ABWEICHEND	Igm PAP/IMF, FIBR.PAP/IMF	C3 INKONSTANT	PAP/IMF
PROLIFERATIV-SKLEROSIERENDE GN	1	1 von 1 (100%)	SEHR GUT MÖGLICH	ABWEICHEND MIT PAP MESANGIALE DEPOSITS KREISFÖRMIG	FIBR. PAP/IMF	---	ÜBEREINSTIMMEND
MEMBRANOPROLIFERATIVE GN	5	1 von 5 (20%)	GUT MÖGLICH*	ÜBEREINSTIMMEND "HUMPS" MIT PAP NICHT SICHER ABGRENZBAR	Igm PAP/IMF	C3 INKONSTANT	PAP/IMF
PERIPHERANÖSE GN	8	8 von 8 (100%)	AUSGEZEICHNET	ÜBEREINSTIMMEND	Igm PAP/IMF, FIBR.PAP/IMF	C3 KONSTANT C4 KONSTANT	ÜBEREINSTIMMEND
FOKAL-SEGMENTAL SKLEROSIERENDE GN	11	3 von 11 (27%)	INKONSTANT	ÜBEREINSTIMMEND	Igm IMF/PAP	C3 INKONSTANT C4 INKONSTANT	IMF/PAP
SCHWELLEN-HEMOCH-NEPHRITIS	10	6 von 10 (60%)	NICHT BEI GERINGEN GLOM. VERÄNDERUNGEN	ÜBEREINSTIMMEND	Igm PAP/IMF	C3 KONSTANT C4 KONSTANT	IMF/PAP
LUPUS-NEPHRITIS	14	8 von 14 (57%)	NICHT BEI GERINGEN GLOM.	ÜBEREINSTIMMEND	Igg IMF/PAP	C3 INKONSTANT C4 INKONSTANT	IMF/PAP

* GUTE ERGEBNISSE MIT DER PAP-METHODE, SIEHE TEXT

** C3/C4-PRÄPARATE DER BEHINDERTE PAP/IMF IMMUNOGLOBULIN - UND FIBRINOGENNACHWEIS IN DEN PAP - HÄUFIGER ALS IN DEN IMF-BEFUNDEN
PAP/IMF INTENSITÄT DER ABLAGERUNGEN IN DEN PAP-BEFUNDEN STÄRKER ALS IN DEN IMF-BEFUNDEN

Tab.24: Korrelation der PAP-Befunde mit den IMF-Befunden in 131 Fällen von Glomerulonephritis unter Berücksichtigung der einzelnen Formen von Glomerulonephritis und unter verschiedenen Gesichtspunkten.

Tab. 25: Übersicht über Untersuchungen mit der PAP-Methode und anderen IMP-Methoden bei menschlichen Nierenbiopsien und deren Ergebnisse, sowie Korrelation zur IMF.

A U T O R	IMP-METHODE	ANZAHL DER FÄLLE	UNTERSUCHTE GN - FORMEN	KORRELATION ZUR IMF	VOR-NACHTEILE DER IMP
DAVEY und BUSCH (1970)	Konjugierte Po Gefrierschnitte	14	Chronische GN (14 x)	ausgezeichnete Korrelation von 96,4 %	Unspez. Hintergrund mit Po starke als IMF. Ablosung der Schnitte bei Po. Gef mit Po häufiger Ablagerungen.
BARIETY und DRUET (1971)	Konjugierte Po Gefrierschnitte?	589	Primäre GN (379 x) Sekundäre GN (56 x) Diverse u. unklassif. GN (28 x; 67 x); Interstitielle N. (25 x);	"Identische Resultate"	-----
MURPHY et al. (1973)	Konjugierte Po Gefrierschnitte	15	-----	"Po bleibt begrenzt"	Lineare Ablagerungen und Gefäß-depots nicht sicher beurteilbar
BELLON et al. (1975)	direkte Po konjugierte Po Gefrierschnitte	---	menschliche und experimentelle GN	Sensibilität Po bis zu 10fach größer	-----
ELIAS und MILLER (1975)	unkonjugierte Po Gefrierschnitte	---	Chron. GN; SLE-GN; PGN; Nephrot. S.; Lipoid-GN; diabet. GN; Nephrocalcinose	ausgezeichnete Korrelation	Keine unspezifische Hintergrunds-anfärbung
DEMK et al. (1977)	PAP Paraffinmaterial	16	PGN (7 x); IGA-Nephritis (1x); FSGN (2x); Akute GN (3x); Minimal change GN (1x); Unspezifische GN (1x); Transplantatabstoßung (1x)	"gleich sensitiv"	C3 inkonstant in 4 Fällen; gute Lokalisation d. Gegenfärbung
BARIETY et al. (1979)	Konjugierte Po EM	---	-----	-----	Po für die EM anwendbar; Genaue Lokalisation von Depots;
McIVER et al. (1979)	PAP Paraffinmaterial	28	PGN (5x); MPGN (4x); RPGN (4x); Diffuse pro- liferative GN (15x).	Konkordanz 81% "Sensitivität ähnlich"	C3/C4 empfindlicher gegen Trypsin andauung. Unterschiedliche Ig-Kombination.
TURNER et al. (1979)	Konjugierte Po Paraffinmaterial Igg, A, M, C3	200	-----	über 80% 10-19% Abweichung je nach Antikörper	Lokalisation von Immudepots durch Gegenfärbung präziser

Tab.25: Fortsetzung

A U T O R	IMP-METHODE	ANZAHL DER	UNTERSUCHTE GN-FORMEN	KORRELATION ZUR IMP	VOR-/NACHTEILE DER IMP
SIMCLAIR et al. (1981)	PAP PARAFIMINATILAL	33	PGN (11x); MRGN (8x); FSGN (5x); IGA-GN (2x); MRGN (2x); DIFF. PROLIF. GN (3x); POLYARTERITIS NODOSA (1x); GOLD-NEPHROPATHIE (1x).	ÜBEREINSTIMMUNG IN 79%	"C3-ANFÄRBDNGEN UNERGÄBLBAR SCHNACH" "WENIGER NEGATIVE ALS POSITIVE UNTERSCHIEDL. IMP/PAP".
TURNER (1981)	PAP PARAFIMINATILAL Ige, Iga, IgM, C3	-----	PGN (-); Iga-GN (-); FSGN (-); MRGN (-);	KEIN VERGLEICH	ERHÖHTE INTENSITÄT GROSSE ANZAHL VON GLOMERULA ZUR VERFÜGUNG.
Mc IVER und MERRIAM (1982)	ÜBERSICHT ÜBER IMP-METHODEN PARAFIMINATILAL	-----	-----	"GLEICHERTIG"	-----
TUBBS und GEPHART (1983)	ÜBERSICHT ÜBER IMP-METHODEN PARAFIMINATILAL	-----	-----	-----	"INKONSTANTE ERGEBNISSE BEI VOR- BEHANDLUNG MIT PROTEOLYTISCHEN ENZYMEN"
KEMENY (1984)	PAP PARAFIMINATILAL Iga, M, FIBR. DIREKTE IMP-METHODE Ige UND C3	30	MRGN (6x); MRGN (8x); IGA-GN (3x); PGN (3x); FSGN (2x); GOODPASTURE-SYNDROM (2x); AKUTE GN (1x); S-H-GN (1x); MINIMAL GN (1x); SLE-GN (1x); CHRON. SKL. GN (1x); NEPHROSCLEROSE (1x)	IDENTISCHE RESULTATE IN 84% MIT PAP: 82% MIT DIREKTER FO: 88%	PAP-METHODE ETWAS SENSITIVER; INKONSTANTER HINTERGRUND; GELBGLÄNZIG UNSPEC. ERY-PO; PAP-METHODE ETWAS SENSITIVER; INKONSTANTER HINTERGRUND; GELBGLÄNZIG UNSPEC. ERY-PO;

Tab. 26: Immunhistologische Befunde der PAP-Methode in 40 Fällen von Glomerulonephritis bei immunfluoreszenzmikroskopisch nicht untersuchtem Biopsiematerial und ihr Beitrag zu lichtmikroskopischen Befunden.

GN - FORM	ANZAHL DER FÄLLE	POSITIVER PAP-BEF: ANZAHL DER FÄLLE	PAP-BEFUNDE IN VERGLEICH ZUR LM	ANWENDBARKEIT DER PAP-METHODE	ABGELAGERTE IMMUNSUBSTANZEN	LOKALISATION
EXSUDATIV-PROLIFERATIVE GN	4	4 von 4	VEREINBAR	SEHR GUT GEEIGNET	IgG, C3	MESANGIAL, SUBENDOTHELIAL
MESANGIOPROLIFERATIVE GN	23	12 von 23	VEREINBAR	SEHR GUT GEEIGNET: DO IgA-, NON-IgA- -POSTINFECTIÖSE GN	IgA (3x) IgG, C3 (4x) IgG, A, M, C3 (5x)	VORWIEHLICH MESANGIAL
IgA - NEPHRITIS	ALLE FÄLLE WAREN MIT IMP-BEFUNDEN VERGLEICHBAR					
INTRA-EXTRAKAPILLAR-PROLIF. GN	ALLE FÄLLE WAREN MIT IMP-BEFUNDEN VERGLEICHBAR					
PROLIFERATIV-SKLEROSIERENDE GN	4	3 von 4	VEREINBAR	GUT GEEIGNET: NICHT FÜR ZUGRUNDE- LIEGENDE GN CHARAKT.	IgM, FIBR., C3	MESANGIAL UND VERÖDETTE GLOMERULA
MEMBRANOPROLIFERATIVE GN	3	3 von 3	VEREINBAR	SEHR GUT GEEIGNET	IgM, C3, C4	SUBENDOTHELIAL
PERIMEMBRANÖSE GN	2	2 von 2	VEREINBAR	SEHR GUT GEEIGNET	IgG, C3, C4	PERIMEMBRANÖS
FOKAL-SEGMENTAL SKLEROSIEREND. GN	3	2 von 3	VEREINBAR	GUT GEEIGNET	IgM	FOKAL IN DEN SKLEROSIERENDEN
SCHWELLEN-HENOCH-NEPHRITIS	1	1 von 1	VEREINBAR	GUT GEEIGNET BEI EINEM UNTERSUCHTEN FALL	IgG, A, M, FIBR.,	MESANGIAL, SUBENDOTHELIAL
LUPUSNEPHRITIS	ALLE FÄLLE WAREN MIT IMP-BEFUNDEN VERGLEICHBAR					

5. ZUSAMMENFASSUNG

Die verschiedenen Formen von Glomerulonephritis werden heute üblicherweise mit einer Methodenkombination von Licht-, Immunfluoreszenz- und Elektronenmikroskopie untersucht, wobei den immunmorphologischen Veränderungen hinsichtlich der Erkennung und genauen Charakterisierung von Glomerulonephritiden eine wesentliche Bedeutung zukommt.

In der vorliegenden Arbeit wurden insgesamt 268 Nierenbiopsien immunhistologisch mit der Peroxidase-Anti-Peroxidase - (PAP) Methode untersucht, die im Gegensatz zur Immunfluoreszenz-Methode den Vorteil bietet, daß sie an Formalin fixiertem und in Paraffin eingebettetem Material angewendet werden kann. In 171 der 268 Biopsien war eine Begutachtung der PAP-Befunde möglich, während 97 der 268 Biopsien nur Anschnitte von Nierengewebe aufwiesen und dadurch nicht beurteilbar waren. Die immunhistologischen Befunde mit der PAP-Methode wurden dabei unter folgenden Gesichtspunkten ausgewertet:

- a) In 131 Fällen wurden die PAP-Ergebnisse mit den Befunden der Immunfluoreszenz verglichen und die Korrelation der beiden Methoden für die verschiedenen GN-Formen getrennt bestimmt.
- b) Bei weiteren 40 Fällen stand ein entsprechender IMF-Befund nicht zur Verfügung, so daß in diesen Fällen retrospektiv Immundepots mit der PAP-Methode aufgezeigt und zu den lichtmikroskopisch erkennbaren morphologischen Veränderungen in Beziehung gesetzt wurden.
- c) Die eigenen Ergebnisse mit der PAP-Methode wurden mit bereits vorliegenden Untersuchungen mit der PAP-Methode, wie auch mit gängigen IMF-Studien verglichen und sowohl Abweichungen, als auch Übereinstimmungen aufgezeigt.
- d) Die Ausarbeitung von Vor- und Nachteilen, sowie die Grenzen der PAP-Methode bei der routinemäßigen Anwendung bei Nierenbiopsien waren weitere Gesichtspunkte dieser Untersuchung.

Der Vergleich der PAP-Ergebnisse mit den Befunden der IMF ergab bei den einzelnen Formen von GN eine unterschiedliche Übereinstimmung in der immunhistologischen Darstellbarkeit mit beiden Methoden:

a) Eine sehr gute Korrelation wurde bei der perimembranösen GN und b) eine gute Korrelation bei der exsudativ-proliferativen, mesangioproliferativen und proliferativ-sklerosierenden GN vorgefunden.

c) Eine sehr geringe Übereinstimmung der immunhistologischen Befunde lag bei der membranoproliferativen und der intra- und extrakapillär-proliferativen GN vor, wobei die gefundenen PAP-Befunde bei beiden GN-Formen aber nicht gegen die Anwendbarkeit der PAP-Methode sprachen.

d) Bei der IgA-Nephritis, fokalsegmental sklerosierenden GN, Schönlein-Henoch- und Lupusnephritis erwies sich die PAP-Methode der IMF unterlegen, da bei diesen GN-Formen immunhistologisch minimale und geringgradige glomeruläre Veränderungen mit der PAP-Methode inkonstant erfaßt wurden.

Die Ergebnisse mit der PAP-Methode in 40 Fällen, die nicht mit entsprechenden IMF-Befunden vergleichbar waren, ergaben für alle untersuchten GN-Formen zufriedenstellende Resultate und standen in guter Übereinstimmung mit den jeweiligen lichtmikroskopischen glomerulären Veränderungen.

Ein Vergleich der eigenen mit bereits vorliegenden PAP-Untersuchungen war nur sehr eingeschränkt möglich, da umfangreichere Studien, die die verschiedenen GN-Formen berücksichtigen, nicht vorliegen.

Als Nachteil der PAP-Methode stellten sich a) falsch negative Befunde bei geringgradig positiven IMF-Befunden und b) ein inkonstanter Nachweis der Komplementfaktoren C3 und C4 heraus. Eine unterschiedliche Qualität der verwendeten Antikörper, Unterschiede bei der Fixation des Biopsiematerials, sowie Einflüsse auf die Antigenität bei der Vorbehandlung mit proteolytischen

Enzymen kommen für diese unzureichenden Ergebnisse in Betracht.

Die Vorteile der PAP-Methode, vor allem für die Routinepathologie und retrospektive Untersuchungen, sowie die Grenzen und Möglichkeiten dieser Methode sind bei der immunhistologischen Darstellung von Glomerulonephritiden bis jetzt nur unvollständig bekannt und ausgeschöpft und sollten durch weiterführende Studien gesichert und verbessert werden.

6. LITERATURVERZEICHNIS:

1. AGNELLO V., KOFFLER D., KUNKEL H.G.:
Immune complex systems in the nephritis of systemic lupus erythematosus.
Kidney Int. 3, 90, 1973.
2. ALBINI B., BRENTJES J.R., ANDRES G.A.:
The immunopathology of the kidney.
Edward Arnold (Publishers) Ltd.
Bedford Square, London, 1979.
3. ANDRES G.A.:
Some forms of sclerosing glomerulonephritis.
In: Immunologically mediated renal disease.
Edit. by McCLUSKEY R.T., Andres G.A., Marcel Dekker Inc., New York and Basel, 80, 1978.
4. ANDRES G.A., ACCINNI L., BEISER S.M., CHRISTIAN C.L., CINOTTI G.A., ERLANGER B.F., HSU K.C., SEEGAL B.C.:
Localization of fluorescein-labelled antinucleoside antibodies in glomeruli of patients with active systemic lupus erythematosus nephritis.
J. Clin. Invest. 49, 2106, 1970.
5. AVRAMEAS S.:
Coupling of enzymes to proteins with glutaraldehyde. Use of the conjugates for the detection of antigens and antibodies.
Immunochemistry 6, 43, 1969.
6. AVRAMEAS S. und URIEL J.:
Methode de marquage d'antigenes et d'anticorps avec des enzymes et son application en immunodiffusion. Comptes rendus hebdomadaire des seances de l'Academie des sciences, 262, 2543, 1966.
7. BARIETY J. und DRUET P.:
Resultat de l'immunohistochimie de 589 biopsies renales (transplantées exclus).
Ann. Med. Interne 122, 63, 1971.
8. BARIETY J., DRUET P., LALIBERTE F.:
L'immunoperoxydase en pathologie glomerulaire.
Pathol. Biol. 23, 485, 1975.
9. BELLON B., SAPIN C., DRUET P.:
Comparaison de la sensibilite des techniques d'immunofluorescence et d'immunoperoxydase en methodes directe et indirecte.
Ann. Immunol. 126C, 15, 1975.
10. BERGER J.:
IgA glomerular deposits in renal disease.
Transplant. Proc. 1, 939, 1969.

11. BERGER J., NOEL L.H., YANERVA H.:
Complement deposition in the kidney.
In: Advances in Nephrology
Edited by Hamburger J., Crosnier J., Maxwell M.H.
Year Book Medical, Chicago, 4, 37, 1974.
12. BERGER J., YANEVA H., HINGLAIS N.:
Immunohistochemistry of glomerulonephritis.
Adv. Nephrol., 1, 11, 1971.
13. BERGROTH V., REITAMO S., KONTTINEN Y.T., LALLA M.:
Sensitivity and nonspecific staining of various immunoperoxidase techniques.
Histochemistry, 68, 17, 1980.
14. BERTHOUX F.C., CARPENTER C.B., TRAEGER J., MERRILL J.P.:
The C3 nephritic factor (C3NeF) and the heat labile complement inactivator (HLCI) in chronic hypocomplementemic mesangioproliferative glomerulonephritis.
In: Advances in Nephrology
Edited by Hamburger J., Crosnier J., Maxwell M.H.
Year Book Medical, Chicago, 4, 91, 1974.
15. BHASIN H.K., ABUELO J.G., NAYAK R., ESPARZA A.R.:
Mesangial proliferative glomerulonephritis.
Lab. Invest., 39, 21, 1978.
16. BOENISCH T.:
Reference guide series 1
PAP/Immunoperoxidase.
DAKO Corporation, Santa Barbara, California, 1980.
17. BOHLE A., EICHENSEHER N., FISCHBACH H., NEILD G.H., WEHNER H., EDEL H.H., LOSSE H., RENNER E., REICHEL W., SCHÜTTERLE G.:
The different forms of glomerulonephritis.
Morphological and clinical aspects, analyzed in 2500 patients.
Klin. Wochenschr., 54, 59, 1976.
18. BOHLE A., GÄRTNER H.V., LABERKE H.-G., KRÜCK F.:
Die Niere. Struktur und Funktion.
F.K. Schattauer-Verlag, Stuttgart, New York, 1984.
19. BOSMAN F.T. und KRUSEMAN A.C.N.:
Clinical applications of the enzyme labelled antibody method.
Immunoperoxidase methods in diagnostic histopathology.
J. Histochem. Cytochem., 27, 1140, 1979.
20. BOSMAN F.T., LINDEMAN J., KUIPER G., van der WAL A., KREUNIG J.:
The influence of fixation on immunoperoxidase staining of plasmacells in paraffin sections of intestinal biopsy specimens.
Histochemistry, 53, 57, 1977.

21. BRENTJES J.R., SEPULVEDA M., BALIAH T., BENTZEL C.,
ERLANGER B.F., ELWOOD C., MONTES M., HSU K.C.,
ANDRES G.A.:
Interstitial immune complex nephritis in patients
with systemic lupus erythematosus.
Kidney Int., 7, 342, 1975.
22. BROWN C.B., CAMERON J.S., TURNER D.R., CHANTLER C.,
OGG C.S., WILLIAMS D.G., BEWICK M.:
Focal segmental glomerulosclerosis with rapid de-
cline in renal function ("malignant FSGS").
Clin. Nephrol., 10, 51, 1978.
23. BURKHOLDER P.M.:
Possible pathogenetic interrelationships among pro-
liferative glomerulonephritis.
In: Glomerulonephritis. Morphology, Natural History,
and Treatment.
Edited by Kincaid-Smith P., Mathew T.H., Becker E.L.
John Wiley & Sons, New York, London, Sydney, Toronto,
1973, 143, 1973.
24. BURNS J.:
Background staining and sensitivity of the unlabel-
led antibody-enzyme (PAP) method. Comparison with
the peroxidase labelled antibody sandwich method us-
ing formalin fixed paraffin embedded material.
Histochemistry, 43, 291, 1975.
25. BURNS J.:
Immunohistological methods and their application in
the routine laboratory.
In: Recent Advances in Histopathology.
Edited by Anthony P.P., Woolf N. Churchill Living-
stone, Edinburgh, London, New York, 16, 337, 1978.
26. BURNS J., HAMBRIDGE M., TAYLOR C.R.:
Intracellular immunoglobulins.
A comparative study on three standard tissue proces-
sing methods using horseradish peroxidase and fluoro-
chrome conjugates.
J. Clin. Pathol., 27, 548, 1974.
27. CAMERON J.S., OGG C.S., TURNER D.R., WELLER R.O.:
Fokal glomerulosklerosis.
In: Glomerulonephritis. Morphology, Natural History
and Treatment.
Edited by Kincaid-Smith P., Mathew P., Becker E.L.
John Wiley & Sons, New York, London, Sydney, Toronto,
249, 1973.
28. CAMERON J.S., VICK R.M., SEYMOUR W.M., CHANTLER C.,
TURNER D.R.:
Plasma C3 and C4 concentrations in management of glo-
merulonephritis.
Brit. Med. J., 3, 668, 1973.

29. CHURG J. und DUFFY J.L.:
Classification of glomerulonephritis based on morphology.
In: Glomerulonephritis. Morphology, Natural History, and Treatment.
Edited by Kincaid-Smith P., Mathew T.H., Becker E.L.
John Wiley & Sons, New York, London, Sydney, Toronto, 43, 1973.
30. CHURG J. und GRISHMAN E.:
Ultrastructure of glomerular disease: A review.
Kidney Int., 7, 254, 1975.
31. CLYNE D.H., NORRIS S.H., MODESTO R.R., PESCE A.J., POLLAK V.E.:
Antibody enzyme conjugates. The preparation of intermolecular conjugates of horseradish peroxidase and antibody and their use in immunohistology of renal cortex.
J. Histochem. Cytochem., 21, 233, 1973.
32. COHEN A.H., BORDER W.A., GLASSOCK R.J.:
Nephrotic syndrome with glomerular mesangial IgM deposits.
Lab. Invest., 38, 610, 1978.
33. COONS A.H., CREECH H.J., JONES R.N.:
Immunological properties of an antibody containing a fluorescent group.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 47, 200, 1941.
34. COUSER W.G. und SALANT D.J.:
In situ immune complex formation and glomerular injury.
Kidney Int., 17, 1, 1980.
35. MCCOY R.C., ABRAMOWSKY C.R., TISHER C.C.:
IgA nephropathy.
Am. J. Pathol., 76, 123, 1974.
36. CURRAN R.C. und GREGORY J.:
The unmasking of antigens in paraffin sections of tissue by trypsin.
Experientia, 33, 1400, 1977.
37. CURRAN R.C. und GREGORY J.:
Effects of fixation and processing on immunohistochemical demonstration of immunoglobulin in paraffin sections of tonsil and bone marrow.
J. Clin. Pathol., 33, 1047, 1980.
38. CURRAN R.C. und JONES E.L.:
Immunoglobulin-containing cells in human tonsils as demonstrated by immunohistochemistry.
Clin. Exp. Immunol., 28, 103, 1977.

39. DAVEY F.R. und BUSCH G.J.
Immunohistochemistry of glomerulonephritis using horseradish peroxidase and fluorescein-labelled antibody: A comparison of two technics.
Am. J. Clin. Pathol., 53, 531, 1970.
40. DAVIES D.R., TIGHE J.R., JONES N.F., BROWN G.W.:
Recurrent haematuria and mesangial IgA deposition.
J. Clin. Pathol., 26, 672, 1973.
41. DAVIES D.R., TIGHE J.R., WING A.J., JONES N.F.:
Immunoglobulin deposition in membranous glomerulonephritis: immunofluorescence and immuno-electron microscopy findings.
Histopathology, 1, 39, 1977.
42. DAVIS B.K. und CAVALLO T.:
Membranoproliferative glomerulonephritis. Localization of early components of complement in glomerular deposits.
Am. J. Pathol., 84, 283, 1976.
43. DAVISON A.M., THOMSON D., McDONALD M.K., UTTLEY W.S., ROBSON J.S.:
The role of the mesangial cell in proliferative glomerulonephritis.
J. Clin. Pathol., 26, 198, 1973.
44. DENK H., RADASZKIEWICZ T., WEIRICH E.:
Pronase pretreatment of tissue sections enhances sensitivity of the unlabelled antibody-enzyme (PAP) technique.
J. Immunol. Methods, 15, 163, 1977.
45. DENK H., SYRE G., WEIRICH E.:
Immunomorphologic methods in routine pathology. Application of immunofluorescence and the unlabelled antibody-enzyme (Peroxidase-Antiperoxidase) technique to formalin fixed paraffin embedded kidney biopsies.
Beitr. Pathol., 160, 187, 1977.
46. DISCHE F.E. und PARSONS V.:
Experience in the diagnosis of glomerulonephritis using combined light microscopical, ultrastructural and immunofluorescence techniques - an analysis of 134 cases.
Histopathology, 1, 331, 1977.
47. DOI T., KANATSU K., NAGAI H., KOHROGI N., HAMASHIMA Y.:
An overlapping syndrome of IgA nephropathy and membranous nephropathy?
Nephron, 35, 24, 1983.

48. McDONALD M.K.:
Dense deposit disease: A subgroup of membranoproliferative glomerulonephritis, identified by electron microscopy.
In: Glomerulonephritis. Morphology, Natural History, and Treatment.
Edited by Kincaid-Smith P., Mathew P., Becker E.L.
John Wiley & Sons, New York, London, Sydney, Toronto, 515, 1973.
49. DUJOVNE I., POLLAK V.E., PIRANI C.L., DILLARD M.G.:
The distribution and character of glomerular deposits in systemic lupus erythematosus.
Kidney Int., 2, 33, 1972.
50. DYSART N.K., SISSON S., VERNIER R.L.:
Immunoelectron microscopy of IgA nephropathy.
Clin. Immunol. Immunopathol., 29, 254, 1983.
51. ELIAS J.M. und MILLER F.:
A comparison of the unlabelled enzyme method with immunofluorescence for the evaluation of human immunologic renal disease.
Am. J. Clin. Pathol., 64, 464, 1975.
52. McENERY P.T., McADAMS A.J., WEST C.D.:
Glomerular morphology, natural history and treatment of children with IgA-IgG mesangial nephropathy.
In: Glomerulonephritis. Morphology, Natural History, and Treatment.
Edited by Kincaid-Smith P., Mathew T.H., Becker E.L.
John Wiley & Sons, New York, London, Sydney, Toronto, 305, 1973.
53. ERLANDSEN S.L., PARSONS J.A., BURKE J.P., REDICK J. A., van ORDEN D.E., van ORDEN L.S.:
A modification of the unlabelled antibody enzyme method using heterologous antisera for the light microscopic and ultrastructural localization of insulin, glucagon and growth hormone.
J. Histochem. Cytochem., 23, 666, 1975.
54. FELTIS J.T., CHURG J., HOLLEY K.M., FEINER H., GALLO G., ACKAD A.S.:
Active and chronic phases of Berger's disease (IgA nephropathy).
Am. J. Kidney Dis., 3, 349, 1984.
55. FILLASTRE J.P., MOREL-MAROGER L., RICHET G.:
Schönlein-Henoch purpura in adults.
Lancet, 1, 1243, 1971.

56. FISCHBACH H.:
The morphologic course of different glomerulonephritides (Examination of repeat biopsies in 264 patients).
In: Current Topics in Pathology. Glomerulonephritis.
Edited by Grundmann E., Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1973.
57. FRIEND P.S., KIM Y., MICHAEL A.F.:
Pathogenesis of membranous nephropathy in systemic lupus erythematosus: possible role of nonprecipitating DNA antibody.
Brit. Med. J., 1, 25, 1977.
58. GÄRTNER H.V., HÖNLEIN F., TRAUB U., BOHLE A.:
IgA-nephropathy (IgA-IgG-nephropathy/IgA-nephritis)-a disease entity?
Virch. Arch. Abt. A. Pathol. Anat., 385, 1, 1979.
59. GÄRTNER H.V., WATANABE T., OTT V., ADAM A., BOHLE A., EDEL H.H., KLUTHE R., RENNER E., SCHELER F., SCHMÜLLING R.M., SIEBERTH H.G.:
Correlations between morphologic and clinical features in idiopathic perimembranous glomerulonephritis.
In: Current Topics in Pathology.
Edited by Grundmann E., Kirsten W.H.
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1977.
60. GÄRTNER H.V., WEHNER H., BOHLE A.:
The immunohistological findings in various forms of glomerulonephritis: A comparative investigation based on 335 renal biopsies.
Pathol. Res. Pract., 162, 178, 1978.
61. GALLO G.R.:
Elution studies in kidneys with linear deposition of immunoglobulin in glomeruli.
Am. J. Pathol., 61, 377, 1970.
62. GALLO G.R. und EMANCIPATOR S.N.:
Postinfectious glomerulonephritis.
In: Pathology of Glomerular Disease.
Edited by Rosen S.
Churchill Livingstone, New York, Edinburgh, London, Melbourne, 63, 1983.
63. GALVANEK E.G.:
IgA and glomerular disease.
In: Pathology of Glomerular Disease.
Edited by Rosen S.
Churchill Livingstone, New York, Edinburgh, London, Melbourne, 161, 1983.

64. GÖTZE O. und MÜLLER-EBERHARD H.J.:
The C3-activator system: An alternate pathway of complement activation.
J. Exp. Med., 134, 91, 1971.
65. GÖTZE O. und MÜLLER-EBERHARD H.J.:
The alternative pathway of complement activation.
In: Advances in Immunology.
Edited by Dixon F.J., Kunkel H.G.
Academic Press, New York, 24, 1, 1976.
66. McGOVERN V.J. und LAUER C.S.:
Focal sclerosing glomerulonephritis.
In: Glomerulonephritis. Morphology, Natural History, and Treatment.
Edited by Kincaid-Smith P., Mathew T.H., Becker E.L.,
John Wiley & Sons, New York, London, Sydney, Toronto,
223, 1973.
67. GRAHAM R.C. und KARNOVSKY M.J.:
The early stages of absorption of injected horse-radish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney; ultrastructural cytochemistry by a new technique.
J. Histochem. Cytochem., 14, 291, 1966.
68. GRUNDMANN E. (Editor):
Current Topics in Pathology. Glomerulonephritis.
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1973.
69. HABIB R.:
Classification of glomerulonephritis based on morphology.
In: Glomerulonephritis. Morphology, Natural History and Treatment.
Edited by Kincaid-Smith P., Mathew T.H., Becker E.L.
John Wiley & Sons, New York, London, Sydney, Toronto,
17, 1973.
70. HABIB R. und GUBLER M.C.:
Focal sclerosing glomerulonephritis.
In: Glomerulonephritis. Morphology, Natural History and Treatment.
Edited by Kincaid-Smith P., Mathew T.H., Becker E.L.
John Wiley & Sons, New York, London, Sydney, Toronto,
263, 1973.
71. HABIB R., KLEINKNECHT C., GUBLER M.C., MAIZ H.B.:
Idiopathic membranoproliferative glomerulonephritis.
In: Glomerulonephritis. Morphology, Natural History and Treatment.
Edited by Kincaid-Smith P., Mathew T.H., Becker E.L.
John Wiley & Sons, New York, London, Sydney, Toronto,
491, 1973.

72. HABIB R. und LEVY M.:
Membranoproliferative glomerulonephritis.
In: Pathology of Glomerular Disease.
Edited by Rosen S.
Churchill Livingstone, New York, Edinburgh, London,
Melbourne, 151, 1983.
73. HABIB R., LOIRAT C., Mc GUBLER, LEVY M.:
Morphology and serum complement levels in membrano-
proliferative glomerulonephritis.
In: Advances in Nephrology.
Edited by Hamburger J., Crosnier J., Maxwell M.H.
Year Book Medical, Chicago, 109, 1974.
74. HAMBURGER J., CROSNIER J., MAXWELL M.H. (Editors):
Advances in Nephrology.
Year Book Medical, Chicago, 1974.
75. HANKER J.S., YATES P.E., METZ C.B., RUSTIONI A.:
A new specific, sensitive and non-carcinogenic rea-
gent for the demonstration of horseradish peroxidase.
Histochem. J., 9, 789, 1977.
76. HARA M., ENDO Y., NIHEI H., HARA S., FUKUSHIMA O.,
MIMURA N.:
IgA nephropathy with subendothelial deposits.
Virchows Arch. Abt. A. Pathol. Anat., 386, 249, 1980.
77. HEATON J.M., TURNER D.R., CAMERON J.S.:
Localization of glomerular 'deposits' in Henoch-
Schönlein nephritis.
Histopathology, 1, 93, 1977.
78. HELMCHEN U.:
Pathologisches Institut der Universität Göttingen,
persönliche Mitteilung.
79. HEPTINSTALL R.H.:
Pathology of membranous glomerulonephritis.
In: Glomerulonephritis. Morphology, Natural History,
and Treatment.
Edited by Kincaid-Smith P., Mathew T.H., Becker E.L.
John Wiley & Sons, New York, London, Sydney, Toronto,
415, 1973.
80. HEPTINSTALL R.H.:
The present status of focal glomerulonephritis.
In: Glomerulonephritis., Morphology, Natural History,
and Treatment.
Edited by Kincaid-Smith P., Mathew T.H., Becker E.L.
John Wiley & Sons, New York, London, Sydney, Toronto,
287, 1973.

81. HEYDERMAN E.:
Immunoperoxidase technique in histopathology:
applications, methods, and controls.
J. Clin. Pathol., 32, 971, 1979.
82. HOFFSTEN P.E., VILLALOBOS R., HILL C., KLAHR S.:
T-cell deficiency in immune complex glomerulo-
nephritis.
Kidney Int., 11, 318, 1977.
83. HYMAN L.R., WAGNILD J.P., BEIRNE G.J., BURKHOLDER
P.M.:
Immunoglobulin-A distribution in glomerular disease:
analysis of immunofluorescence localization and pa-
thogenetic significance.
Kidney Int., 3, 397, 1973.
84. McINTOSCH R.M., GARCIA R., RUBIO L., RABIDEAU D.,
ALLEN J.E., CARR R.I., RODRIGUEZ-ITURBE B.:
Evidence for an autologous immune complex patho-
genic mechanism in acute poststreptococcal glomeru-
lonephritis.
Kidney Int., 14, 501, 1978.
85. McIVER A.G., GIDDINGS J., MEPHAM B.L.:
Demonstration of extracellular immunoproteins in
formalin-fixed renal biopsy specimens.
Kidney Int., 16, 632, 1979.
86. McIVER A.G. und MEPHAM B.L.:
Immunoperoxidase techniques in human renal biopsy.
Histopathology, 6, 249, 1982.
87. JENIS E.H. und LOWENTHAL D.T.:
Kidney Biopsy Interpretation.
F.A. Davis Company, Philadelphia, 1977.
88. KEMENY E.:
Immunoperoxidase technique in kidney biopsies.
Acta Histochem., Suppl.-Band XXX, 227, 1984.
89. KINCAID-SMITH P.:
The Kidney. A Clinico-Pathological Study.
Blackwell Scientific Publications, Oxford, London,
Edinburgh, Melbourne, 1975.
90. KINCAID-SMITH P., MATHEW T.H., BECKER E.L. (Editors):
Glomerulonephritis.
Morphology, Natural History, and Treatment.
John Wiley & Sons, New York, London, Sydney, Toronto,
1973.
91. KLAUS D.:
Nephrologische Erkrankungen.
Urban & Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore, 1983.

92. KOFFLER D., AGNELLO V., CARR R.I., KUNKEL H.G.:
Variable patterns of immunoglobulin and complement
deposition in the kidney of patients with systemic
lupus erythematosus.
Am. J. Pathol., 56, 305, 1969.
93. KOFFLER D., AGNELLO V., THOBURN R., KUNKEL H.G.:
Systemic lupus erythematosus: prototype of immune
complex nephritis in man.
J. Exp. Med., 134, 169, 1971.
94. LAWLER W., WILLIAMS G., TARPEY P., MALLICK N.P.:
IgM associated primary diffuse mesangial proliferative
glomerulonephritis.
J. Clin Pathol., 33, 1029, 1980.
95. McLEAN R.H. und MICHAEL A.F.:
Properdin and C3 proactivator: Alternate pathway components
in human glomerulonephritis.
J. Clin. Invest., 52, 634, 1973.
96. McLEISH K.R., YUM M.N., LUFT F.C.:
Rapidly progressive glomerulonephritis in adults:
clinical and histologic correlations.
Clin. Nephrol., 10, 43, 1978.
97. De LELLIS R.A., STERNBERGER L.A., MANN R.B., BANKS
P.M., NAKANE P.K.:
Immunoperoxidase technics in diagnostic pathology.
Am. J. Clin. Pathol., 71, 483, 1979.
98. LEVY M., BRODYER M., ARSAN A., LEVY-BENTOLILA D.,
HABIB R.:
Anaphylactoid purpura nephritis in childhood:
natural history and immunopathology.
Adv. Nephrol., 6, 183, 1976.
99. LOWANCE D., MULLINS J., McPHAUL J.J.:
Immunoglobulin A (IgA) associated glomerulonephritis.
Kidney Int., 3, 167, 1973.
100. MAGORI A., IVANYI B., KEMENY E., NEMETH A., SONKODI
S., ORMOS J.:
Immunohistochemistry of vessels in renal biopsies.
Acta Histochem., Suppl.-Band XXX, 221, 1984.
101. MARUCCI A.A. und DOUGHERTY R.M.:
Use of the unlabelled antibody immunohistochemical
technique for the detection of human antibody.
J. Histochem. Cytochem., 23, 618, 1975.

102. MEADOWS R.:
Renal Histopathology.
A light, electron, and immunofluorescent microscopy
study of renal disease.
Oxford University Press, Oxford, New York, Melbourne,
1978.
103. MEPHAM B.L.:
Influence of fixatives on the immunoreactivity of
paraffin sections.
Histochem. J., 14, 731, 1982.
104. MEPHAM B.L., FRATER W., MITCHELL B.S.:
The use of proteolytic enzymes to improve immunoglo-
bulin staining by the PAP technique.
Histochem. J., 11, 345, 1979.
105. MESA-TEJADA R., RAMANARAYANAN M., BRAUNHUT S., BER-
TANI T., PIRANI C.L.:
Localisation of immunoglobulins (Igs) and complement
components (C) in renal biopsy specimens with the
labelled antigen immunoperoxidase (IP) method; compa-
rison with immunofluorescence (IF).
J. Histochem. Cytochem., 29, 889, 1981.
106. MICHAEL A.F., DRUMMOND K.N., GOOD R.A., VERNIER R.L.:
Acute poststreptococcal glomerulonephritis:
Immune deposit disease.
J. Clin. Invest., 45, 237, 1966.
107. MICHAEL A.F. und McLEAN R.H.:
Evidence for activation of the alternate pathway in
glomerulonephritis.
In: Advances in Nephrology.
Edited by Hamburger J., Crosnier J., Maxwell M.H.
Year Book Medical, Chicago, 49, 1974.
108. MIESCHER P.A. und MÜLLER-EBERHARD H.J. (Editors)
Textbook of Immunopathology.
Grune & Stratton, New York, San Francisco, London,
1976.
109. MIESCHER P.A., PARONETTO F., LAMBERT P.H.
Systemic lupus erythematosus.
In: Textbook of Immunopathology.
Edited by Miescher P.A., Müller-Eberhard H.J.
Grune & Stratton, New York, San Francisco, London,
963, 1976.
110. MIHATSCH M.J.:
A modern classification of glomerulonephritis-
a step forward to the pathologist.
Pathol. Res. Pract., 164, 35, 1979.

111. MILLER H.R.P.:
Fixation and tissue preservation for antibody studies.
Histochem. J., 4, 305, 1972.
112. MOREL-MAROGER L., ADAM C., RICHET G.:
The value of immunofluorescence in the diagnosis of glomerulonephritis.
In: Glomerulonephritis. Morphology, Natural History, and Treatment.
Edited by Kincaid-Smith P., Mathew T.H., Becker E.L.
John Wiley & Sons, New York, London, Sydney, Toronto, 81, 1973.
113. MOREL-MAROGER L., LEATHEM A. RICHET G.:
Glomerular abnormalities in non-systemic disease. Relationships between findings by light microscopy and immunofluorescence in 433 renal biopsy specimens.
Am. J. Med., 53, 170, 1972.
114. MOSELEY H.L. and WHALEY K.:
Control of complement activation in membranous and membranoproliferative glomerulonephritis.
Kidney Int. 17, 535, 1980.
115. MÜLLER-EBERHARD H.J.:
The complement system in nephritis.
In: Advances in Nephrology.
Edited by Hamburger J., Crosnier J., Maxwell M.H.
Year Book Medical, Chicago, 3, 1974.
116. MURPHY W.M., DEODHAR S.D., CAWLEY L.P.:
Use of horseradish peroxidase in identification of serum antibodies and immune complexes.
Clin. Chem., 19, 1370, 1973.
117. NAKANE P.K. und PIERCE G.B.:
Enzyme-labelled antibodies: preparation and application for the localization of antigens.
J. Histochem. Cytochem., 14, 929, 1966.
118. NAKANE P.K. und PIERCE G.B.:
Enzyme-labelled antibodies for the light and electron microscopic localization of tissue antigens.
J. Cell Biol., 33, 307, 1967.
119. OLSEN S.T.:
Extracapillary glomerulonephritis- a semiquantitative lightmicroscopical study of 59 patients.
Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. A Pathol., Suppl. 249, 7, 1974.
120. OOI Y.M., VALLOTA E.H., WEST C.D.:
Serum immune complexes in membranoproliferative and other glomerulonephritis.
Kidney Int., 11, 275, 1977.

121. PARONETTO F. und KOFFLER D.:
Immunofluorescent localization of immunoglobulins,
complement, and fibrinogen in human renal disease.
I. Systemic lupus erythematosus.
J. Clin. Invest., 44, 1657, 1965.
122. PIRANI C.L. und POLLAK V.E.:
Systemic lupus erythematosus (SLE) and glomerulo-
nephritis (Lupus nephritis).
In: Immunologically mediated renal disease.
Edited by McCluskey R.T., Andres G.A.
Marcel Dekker Inc., 19, 1978.
123. POLLAK V.E., MENDOZA N., PIRANI C.L.:
Immunohistologic observations in mesangioprolifera-
tive glomerulonephritis.
In: Glomerulonephritis. Morphology, Natural History,
and Treatment.
Edited by Kincaid-Smith P., Mathew T.H., Becker E.L.
John Wiley & Sons, New York, London, Sydney, Toronto,
633, 1973.
124. POLLAK V.E., PIRANI C.L., CLYNE D.H.:
The natural history of membranous glomerulonephritis.
In: Glomerulonephritis. Morphology, Natural History,
and Treatment.
Edited by Kincaid-Smith P., Mathew T.H., Becker E.L.
John Wiley & Sons, New York, London, Sydney, Toronto,
429, 1973.
125. Van de PUTTE L.B.A., de la RIVIERE G.B., Van BREDA
VRIESMAN P.J.C.:
Recurrent or persistent hematuria. Sign of mesangial
immune-complex deposition.
N. Engl. J. Med., 290, 1165, 1974.
126. RAMBAUSEK M.:
Mesangiale IgA-Glomerulonephritis (IgA-GN)- eine
Systemerkrankung.
Klinikerarzt, 12, 494, 1983.
127. RAMBAUSEK M., SEELIG H.P., ANDRASSY K., WALDHERR R.,
KEHRY J., LENHARD V., RITZ E.:
Mesangiale IgA-Glomerulonephritis.
Neue Aspekte zur Diagnose, Klinik und Prognose.
Dtsch. Med. Wochenschr., 108, 125, 1983.
128. READING M.:
A digestion technique for the reduction of background
staining in the immunoperoxidase method.
J. Clin. Pathol., 30, 88, 1977.

129. RICHET G., CHEVET D., MOREL-MAROGER L.:
Serial biopsies in diffuse proliferative glomerulonephritis in adults:
An attempt for a better understanding of sporadic acute glomerulonephritis.
In: Glomerulonephritis. Morphology, Natural History, and Treatment.
Edited by Kincaid-Smith P., Mathew T.H., Becker E.L.
John Wiley & Sons, 363, 1973.
130. ROSEN S. (Editor):
Pathology of Glomerular Disease.
Churchill Livingstone, New York, Edingburgh, London, Melbourne, 1983.
131. ROSEN S.:
Classification of glomerular disease.
In: Pathology of Glomerular Disease.
Edited by Rosen S.
Churchill Livingstone, New York, Edinburgh, London, Melbourne, 1, 1983.
132. ROSEN S., GALVANEK E., LEVY M., HABIB R.:
Glomerular disease.
Hum. Pathol., 12, 964, 1981.
133. ROTHFIELD N., ROSS A., MINTA J.O., LEPOW I.H.:
Glomerular and dermal deposition of properdin in systemic lupus erythematosus.
N. Engl. J. Med., 287, 681, 1972.
134. SHEIBANI K., TUBBS R.R., GEPHARDT G.N., McMAHON J.T., VALENZUELA R.:
Comparison of alternative chromogens for renal immunohistochemistry.
Hum. Pathol., 12, 349, 1981.
135. SILVA F.G.:
The nephropathies of systemic lupus erythematosus.
In: Pathology of Glomerular Disease.
Edited by Rosen S.
Churchill Livingstone, New York, Edinburgh, London, Melbourne, 79, 1983.
136. SINCLAIR R.A., BURNS J., DUNNILL M.S.:
Immunoperoxidase staining of formalin-fixed, paraffin-embedded, human renal biopsies with a comparison of the peroxidase-antiperoxidase (PAP) and indirect methods.
J. Clin. Pathol., 34, 859, 1981.

137. STERNBERGER L.A., HARDY P.H., CUCULIS J.J., MEYER H.G.:
The unlabelled antibody enzyme method of immunohistochemistry.
Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes.
J. Histochem. Cytochem., 18, 315, 1970.
138. STERZEL R.B., LOVETT D.H., STEIN H.D., KASHGARIAN M.:
The mesangium and glomerulonephritis.
Klin. Wochenschr., 60, 1077, 1982.
139. STILMANT M.M.:
Crescentic glomerulonephritis.
General comments on EM and IF analysis.
In: Pathology of Glomerular Disease.
Edited by Rosen S.
Churchill Livingstone, New York, Edinburgh, London, Melbourne, 35, 1983.
140. SWAINSON C.P., ROBSON J.S., THOMSON D., McDONALD M.K.:
Mesangiocapillary glomerulonephritis: a long term study of 40 cases.
J. Pathol., 141, 449, 1983.
141. SYRE G.:
IgA mesangial glomerulonephritis; significance and pathogenesis of segmental-fokal glomerular lesions.
Virchows Arch. Abt. A. Pathol. Anat. 402, 11, 1983.
142. TAYLOR C.R.:
Immunoperoxidase techniques.
Practical and theoretical aspects.
Arch. Pathol. Lab. Med., 102, 113, 1978.
143. TAYLOR C.R. und BURNS J.:
The demonstration of plasma cells and other immunoglobulin-containing cells in formalin-fixed, paraffin embedded tissues using peroxidase-labelled antibody.
J. Clin. Pathol., 27, 14, 1974.
144. THOENES G.H.:
The immunohistology of glomerulonephritis-Distinctive marks and variability.
In: Current Topics in Pathology. Glomerulonephritis.
Edited by Grundmann E. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 61, 1973.
145. THOENES G.H.:
Die Immunhistologie der Glomerulonephritis.
Mittler zwischen Pathogenese und Morphologie.
Klin. Wochenschr., 51, 739, 1973.

146. THOENES W.:
Pathologische Systematik der Glomerulonephritis-
unter Berücksichtigung klinischer Aspekte.
Nieren Hochdruckkr., 5, 119, 1973.
147. THOENES W.:
Pathomorphologische Prinzipien und Formen der Glo-
merulonephritis.
Monatsschr. Kinderheilkd., 122, 728, 1974.
148. THOENES W.:
Pathologische Anatomie der Glomerulonephritiden.
Neue Ergebnisse und Klassifikation.
Therapiewoche, 27, 7851, 1977.
149. THOENES W.:
Aktuelle Pathologie der Glomerulonephritis.
Klin. Wochenschr., 57, 799, 1979.
150. THOENES W.:
Pathologie der Glomerulonephritiden.
In: Klinische Nephrologie.
Herausgegeben von Losse H., Renner E.
Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 43, 1982.
151. TÖRNROTH T:
Membranous Glomerulonephritis.
In: Pathology of Glomerular Disease.
Edited by Rosen S.
Churchill Livingstone, New York, Edinburgh, London,
Melbourne, 125, 1983.
152. TUBBS R.R. und GEPHARDT G.N.:
Use and interpretation of immunoperoxidase proce-
dures in renal disease.
In: Pathology of Glomerular Disease.
Edited by Rosen S.
Churchill Livingstone, New York, Edinburgh, London,
Melbourne, 11, 1983.
153. TUBBS R.R., GEPHARDT G., VALENZUELA R., DEODHAR S.:
An approach to immunomicroscopy of renal disease
with immunoperoxidase and periodic acid-Schiff coun-
terstain (IMPAS stain).
Am. J. Clin. Pathol., 73, 240, 1980.
154. TUBBS R.R., SHEIBANI K., DEODHAR S.D.:
Enzyme immunohistochemistry: review of technical
aspects and diagnostic applications.
Cleveland Clin. Q., 48, 245, 1981.
155. TURNER D.R.:
Advances in understanding the morphology of glomeru-
lar disease.
J. Clin. Pathol., 34, 1207, 1981.

156. TURNER D.R. und ROSEN S.:
Lipoid nephrosis (minimal change nephropathy); focal and segmental glomerulosclerosis.
In Pathology of Glomerular Disease.
Edited by Rosen S.
Churchill Livingstone, New York, Edinburgh, London, Melbourne, 195, 1983.
157. TURNER D.R., WILSON D.M., LAKE A., HEATON J.M., LEIBOWITZ S., CAMERON J.S.:
An evaluation of the immunoperoxidase technique in renal biopsy diagnosis.
Clin. Nephrol., 11, 13, 1979.
158. UNANUE E.R., DIXON F.J., FELDMAN J.D.:
Experimental immunologic disease of the kidney.
In: Textbook of Immunopathology.
Edited by Miescher P.A., Müller-Eberhard H.J.
Grune & Stratton, New York, San Francisco, London, 231, 1976.
159. URIZAR R.E. und HERMAN R.C.:
Anaphylactoid purpura.
III. Early morphologic glomerular changes.
Am. J. Clin. Pathol., 53, 258, 1970.
160. VELOSA J., MILLER K., MICHAEL A.F.:
Immunopathology of the end-stage kidney.
Am. J. Pathol., 84, 149, 1976.
161. VERROUST P.J., WILSON C.B., COOPER N.R., EDGINGTON T.S., DIXON F.J.:
Glomerular complement components in human glomerulonephritis.
J. Clin. Invest., 53, 77, 1974.
162. VOGT A. und BATSFORD S.R.:
Eine neue Vorstellung zur Pathogenese der Immunkomplexnephritis.
Klin. Wochenschr., 60, 1095, 1982.
163. WALDHERR R., GUBLER M.C., LEVY M., BROYER M., HABIB R.:
The significance of pure diffuse mesangial proliferation in idiopathic nephrotic syndrome.
Clin. Nephrol., 10, 171, 1978.
164. WARDLE E.N.:
Fibrin in renal disease: functional considerations.
Clin. Nephrol., 2, 85, 1974.
165. WEST C.D., RULEY E.J., FORRISTAL J., DAVIS N.C.:
Mechanism of hypocomplementemia in glomerulonephritis.
Kidney Int., 3, 116, 1973.

166. WHITHWORTH J.A., TURNER D.R., LEIBOWITZ S., CAMERON J.S.:
Focal segmental sclerosis or scarred focal proliferative glomerulonephritis?
Clin. Nephrol., 9, 229, 1978.
167. WILLIAMS D.G., CHARLESWORTH J.A., LACHMANN P.J., PETERS D.K.:
Role of C3b in the breakdown of C3 in hypocomplementaemic mesangiocapillary glomerulonephritis.
Lancet, 1, 447, 1973.
168. WILSON C.B.:
Anti-GBM glomerulonephritis.
In: Pathology of Glomerular Disease
Edited by Rosen S.
Churchill Livingstone, New York, Edinburgh, London, Melbourne, 171, 1983.
169. WILSON C.G. und DIXON F.J.:
Diagnosis of immunopathologic renal disease.
Kidney Int., 5, 389, 1974.
170. WOODROFFE A.J., GORMLY A.A., MCKENZIE P.E., WOOTTON A.M., THOMPSON A.J., SEYMOUR A.E., CLARKSON A.R.:
Immunologic studies in IgA-nephropathy.
Kidney Int., 18, 366, 1980.
171. ZOLLINGER H.U. und MIHATSCH M.J.:
Renal Pathology in Biopsy.
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1978.

LEBENS LAUF

Name: Manuela Herbert
geboren: 13. Juli 1958
in: München
Familienstand: ledig
Staatsangehörigkeit: deutsch
Eltern: Richard G. Herbert, Redakteur
Anneliese Herbert, geb. Fischer

SCHULBILDUNG:

1965 - 1969 Grundschule Grünwald
1969 - 1978 Theodolinden-Gymnasium
29.06.1978 Allgemeine Hochschulreife

HOCHSCHULSTUDIUM DER MEDIZIN:

1978 - 1980 Technische Universität München
1980 - 1985 Ludwig-Maximilians-Universität München

11.09.1980 Ärztliche Vorprüfung,
27.08.1981 Ärztliche Prüfung, 1. Abschnitt
20.03.1984 Ärztliche Prüfung, 2. Abschnitt
10.04.1985 Ärztliche Prüfung, 3. Abschnitt
schriftlicher Teil
26.06.1985 Ärztliche Prüfung, 3. Abschnitt
mündlicher Teil
Ärztliche Approbation 09. Juli 1985

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Gokel für die hervorragende Betreuung und die vielen richtungsweisenden Anregungen, die in die vorliegende Arbeit eingeflossen sind.

Vielmals möchte ich auch Herrn Prof. Dr. Eder danken für die herzliche Aufnahme und die Möglichkeit, an seinem Institut zu promovieren.

Herrn Prof. Dr. Thoenes möchte ich für die Überlassung der immunfluoreszenzmikroskopischen Befunde ebenso danken.

Mein Dank gilt auch Frau Tränkel für die sorgfältige Ausfertigung des Manuskriptes.

